

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**"ESTUDO FITOQUÍMICO DE *BACCHARIS*
PSEUDOTENUIFOLIA, *BACCHARIS LIGUSTRINA* E
BACCHARIS PLATYPODA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTIMICROBIANO"**

FRANCISCO DE PAULA MADEIRA MOREIRA

Florianópolis, setembro de 2000

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**"ESTUDO FITOQUÍMICO DE *BACCHARIS PSEUDOTENUIFOLIA*,
BACCHARIS LIGUSTRINA E *BACCHARIS PLATYPODA* E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO"**

**DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA
CATARINA PARA A OBTENÇÃO DE GRAU DE MESTRE EM QUÍMICA
ORGÂNICA**

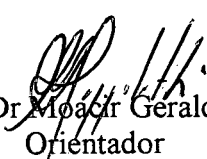
FRANCISCO DE PAULA MADEIRA MOREIRA

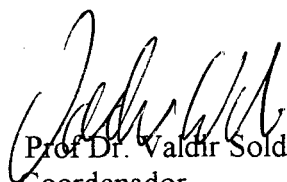
Florianópolis, setembro de 2000

**" ESTUDO FITOQUÍMICO DE *BACCHARIS PSEUDOTENUIFOLIA*,
BACCHARIS LIGUSTRINA E *BACCHARIS PLATYPODA* E AVALIAÇÃO DO
POTENCIAL ANTIMICROBIANO"**

FRANCISCO DE PAULA MADEIRA MOREIRA

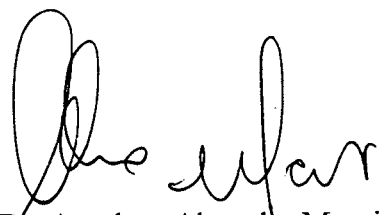
Esta dissertação foi julgada e aprovada em sua forma final pelo orientador e pelos membros da banca examinadora para a obtenção do grau de Mestre em Química Orgânica.

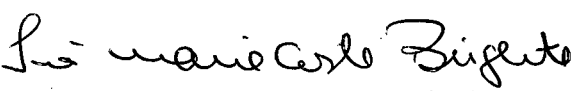

Prof. Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti
Orientador

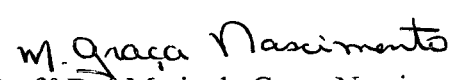

Prof. Dr. Valdir Soldi
Coordenador

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti
Orientador


Prof. Dr. Anselmo Alpandes Moraes
U. F. R. R. J.


Prof.ª Dr.ª Inês Maria Costa Bringham
U. F. S. C.


Prof.ª Dr.ª Maria da Graça Nascimento
U. F. S. C.

Florianópolis, 1 de setembro de 2000.

FICHA CATALOGRÁFICA

MOREIRA, Francisco de Paula Madeira. **Estudo fitoquímico de *Baccharis pseudotenuifolia*, *Baccharis ligustrina* e *Baccharis platypoda* e avaliação do potencial antimicrobiano.** Florianópolis, 2000. 142 p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Curso de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

Dissertação de Mestrado em Química Orgânica

1. *Baccharis pseudotenuifolia*, *Baccharis ligustrina* e *Baccharis platypoda*, flavonóides, diterpenos, triterpenos, esteróis, isolamento, identificação. 2. Teses. I. Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Química. II. Título.

Este trabalho foi realizado sob a orientação do Prof. Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti, do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof^o. Moacir G. Pizzolatti pela orientação e empenho na busca de recursos para realização desta dissertação. Bem como pela amizade.

Ao Prof^o. Anselmo Antunes Alpandes pelas sugestões, identificação das espécies estudadas, fornecimento dos extratos e pela participação como membro da banca.

Ao Dr. Franco D. Monache, Pesquisador do CNR-Itália, pela colaboração na obtenção dos espectros de RNM a 300 MHz e sugestões nas elucidações estruturais.

Ao Prof^o. Arthur Smânia Junior, pela realização dos bioensaios de atividade antimicrobiana.

Ao professor Eloir Paulo Schenkel, da UFRG pela identificação e o fornecimento e amostra da espécie vegetal da *B. pseudotenueifolia*.

Ao colega Wagener Souto Pereira, pela grande ajuda no isolamento dos composto identificados.

Ao amigo Pierry André de Souza pela colaboração em vários aspectos deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório Química de Produtos Naturais: Rodrigo Cristiano, Wagener Souto Pereira, Ana Carine Timbola, Eliandra de Souza e Claudia Anzini pelo coleguismo e agradável companhia.

A Prof^a. Dr^a Inês Maria da Costa Bringhete e Prof. Dr^a Maria da Graça Nascimento pela participação como membros da banca.

Aos demais colegas e Professores do Departamento de Química pelo agradável convívio nesta importante e etapa da minha vida.

Aos meus familiares e filho que sempre foram motivo de orgulho para mim.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUÇÃO.....	1
1- Considerações Gerais Sobre o Gênero <i>Baccharis</i>	2
2 - Posição Sistemática do Gênero <i>Baccharis</i>	3
3- Revisão Bibliográfica do Gênero <i>Baccharis</i>	4
4 - Falvonoides no Gênero <i>Baccharis</i>	12
OBJETIVOS.....	14
PARTE EXPERIMENTAL.....	15
1 - Materiais e Métodos.....	15
2 - Coleta e Identificação das Espécies estudadas.....	16
3 - Obtenção dos Extratos.....	17
4 - Fracionamento do Extrato Etanólico das Folhas de <i>B. ligustrina</i>	18
4.1 - Sub-extrato Clorofórmio.....	18
4.2 - Sub-Extrato Metanólico.....	19
5 - Fracionamento do Extrato Clorofórmico das Folhas de <i>Baccharis pseudotenuifolia</i>	20
5.1 - Sub-Extrato CHCl ₃	21
5.2 - Sub-Extrato Metanólico.....	22
6 - Fracionamento dos Extratos Brutos de <i>Baccharis platypoda</i>	23
6.1 - Fracionamento do Extrato CHCl ₃ da Inflorescência de <i>Baccharis platypoda</i>	23
6.2 - Fracionamento do Extrato CHCl ₃ da Madeira de <i>Bacchaes platypoda</i>	26
6.3 -Fracionamento do Extrato EtOH da	

Inflorescência de <i>Baccharis platypoda</i>	27
7-Atividade Antimicrobiana	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
1 - ESTUDO FITOQUÍMICO.....	32
1.1 - EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE <i>B. ligustrina</i>	32
1.1.1 - Identificação do Ácido Ursólico (1).....	32
1.1.2 - Identificação do Ácido Oleanólico (2).....	34
1.1.3 - Identificação de 4'-Hidroxiwogonin (4).....	36
1.2 - EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE <i>B. pseudotenuifolia</i>	37
1.2.2 - Identificação da Quercetina (6).....	38
1.2.3 - Identificação da mistura Quercetina-3-O-Rhamnosideo (7)	
Quercetina-3-O-Glucosideo (8).....	39
1.3 - EXTRATOS BRUTOS DE <i>BACCHARIS. PLATYPODA</i>	40
1.3.1- Identificação do Baurenol (10).....	40
1.3.2 - Identificação da β -amirina (11).....	41
1.3.1.3 - Identificação do ácido Kaurenóico (9).....	41
1.3.4 - Identificação da Naringenina (12).....	42
1.3.5 - Identificação da Naringenina-7-metoxi (13).....	43
1.3.6 - Identificação da Quercetina 3'-metoxi (14).....	44
1.3.7 - Identificação da Apigenina-7-metoxi (15).....	45
1.3.8 - Identificação da Taxifolina (16).....	46
1.3.9 - Identificação da Taxifolina-3'-acetil (17).....	46
1.3.10 - Identificação da mistura Eriodictiol (18) + Aromadendrina (19)...	47
2 - AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	49
CONCLUSÕES.....	51
BIBLIOGRAFIA.....	53
ANEXO - CATÁLOGO DE ESPECTROS.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS

Pf	Ponto de Fusão
IV	Infravermelho
EM	Espectro de Massa
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Próton
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
DEPT	Acoplamento Distorcido por Transferência de Polarização.
APT	Attached Proton test'
DIFNOE	Efeito Overhauser seletivo
Rf	Fator de retenção relativo
IM	inibição máxima
cm ⁻¹	unidade de número de onda
δ	deslocamento químico
ppm	parte por milhão da frequência aplicada
λ	comprimento de onda máximo
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
CD ₆ CO	acetona deuterada
AcOEt	acetato de etila
C ₅ D ₅ N	piridina deuterada
MeOH	metanol
Hex	hexano
OMe	metoxila
CCDA	cromatografia de camada delgada analítica

RESUMO

As *Baccharis* são conhecidas como carqueja e no Brasil tem sido usadas na medicina popular para o tratamento de distúrbios digestivos e hepáticos, regula o funcionamento do fígado e intestino.

No presente trabalho foi realizado um estudo fitoquímico de três espécies de *Baccharis*: *B. pseudotenuifolia*, *B. ligustrina* e *B. platypoda*, e suas propriedades antimicrobianas também foram avaliados.

De *B. ligustrina* foram isolados e identificados o Ácido Ursólico (1), Ácido Oleanólico (2), e 4'- Hidroxiwogonin (4).

De *B. pseudotenuifolia* foram isolado e identificados como sendo, Acido Oleanólico (2), Spinasterol (5), Quercetina (6), e uma mistura contendo Quercetina-3-O-Raminosideo (7) e Quercetina-3-O-Glucosideo (8).

De *B. Platypoda* foram isolado o Ácido Kaurenico (9), Baurenol (10), β amerina (11), Naringenina (12), Naringenina-7-metoxi (13), Apigenina -7-metoxi (15), Taxofolina (16), Taxifolina-3-acetil (17), Eriodictiol (18) e aromadendrina.(19).

Os compostos como 4'- hidroxiwogonin, Baurenol, Naringenina-7-metoxi, Taxofolina, Taxifolina -3-acetil, Eriodictiol e aromadendrina. são inéditas para o gêneros *Baccharis*.

Todas as estruturas foram elucidadas através das análises espectroscópicas e por comparação com dados existentes na literatura.

Foram realizados ensaios biológicos para avaliar a atividade antibacteriana, obtendo-se resultados promissores nos extratos etanólicos.

As espécies *B. ligustrina* e *B. Platypoda* também apresentaram atividade contra forma de cultura do *Tripanozoma cruzi*.

ABSTRACT

Baccharis, known as Carqueja a Brazilian plant species, has been used in popular medicine for digestive and hepatic disturbance treatment. It regulates the operation of the liver and intestines.

In the current work, a phytochemical study of three species of *Baccharis* was accomplished: *B. pseudotenuifolia* DC, *B. ligustrina* DC and *B. platypoda* DC and its antimicrobial properties were also appraised.

From *Baccharis ligustrina* DC were isolated and identified ursolic acid (1), oleanolic acid (2), and 4'-hydroxywogonin (4).

From *B. pseudotenuifolia* DC were isolated and identified, oleanolic acid (2), spinasterol (5), quercetin (6), and mixtures of quercetin-3-O-rhamnoside (7) and quercetin-3-O-glucoside (8).

From *B. platypoda* DC were isolated and identified kaurenoic acid (9), baurenol (10), α -amyrin (11), naringenin (12), naringenin-7-methoxy (13), apegenin-7-methoxy (15), taxifolin (16), taxifolin-3-acetyl (17), eryodictol (18) and aromadendrin. (19).

The compounds 4'-hydroxywogonin, baurenol, naringenin-7-methoxy, taxofolin, taxofolin -3 - acetyl, eryodictol and aromadendrina were unpublished for the genus *Baccharis*.

The structures were determined using spectroscopic analysis and were compared with literature data.

Biological analysis were accomplished in order to evaluate the antibacterian activity and the obtained results were promising using EtOH extracts.

B. ligustrina DC and *B. platypoda* DC species also exhibited activity against the *Trypanosoma cruzi* culture.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins medicinais é tão antiga quanto a própria humanidade. As comunidades primitivas utilizam empiricamente as propriedades curativas das plantas, transmitindo e acumulando seus conhecimentos de geração em geração ¹.

Grande parte dos conhecimentos sobre as plantas e a forma pela qual podem ser aproveitadas para fins curativos e profiláticos vem de povos antigos. Neste contexto tem grande destaque a cultura milenar chinesa e indiana que muito se beneficiaram e continuam tirando grande proveito dos efeitos benéficos das plantas medicinais. Isto pode ser observado atualmente na grande quantidade de artigos sobre plantas medicinais publicada pelos orientais. Do mesmo modo podemos citar os antigos egípcios, que através de seus sacerdotes buscavam nas plantas medicinais a cura de seus males ¹.

Os gregos e romanos utilizavam e difundiam o uso das propriedades terapêuticas das plantas. Durante as grandes conquistas do Império Romano, seus exércitos e viajantes difundiam seus conhecimentos e adquiriam novas práticas. Estes conhecimentos acumulados a respeito de plantas curativas começavam a ser escritos pelos grandes filósofos dos quais podemos destacar Hipócrates, o pai da medicina, Teofrasto e Dioscórides, embora o mais antigo registro com relação as propriedades curativas das plantas é o Papiro de Erbs que data de 3.500 aC ².

Já na Idade Média, nos mosteiros, eram cultivadas ervas medicinais das quais se preparavam infusões e estes procedimentos eram registrados em livros. Com o advento das grandes navegações, estes conhecimentos foram sendo difundidos pelo mundo e também adquiridos dos aborígenes das terras desconhecidas do Novo Mundo ¹.

A descoberta de novas plantas com propriedades e usos medicinais aumentou de maneira significativa no último século, e hoje são mais 250.000 espécies de vegetais já foram identificadas, devidamente catalogadas e agrupadas em 12.500 gêneros e 350 famílias ².

O estudo científico das plantas vem tradicionalmente sendo abordado sob dois grandes temas: Botânica que se ocupa em estudar os aspectos morfológicos macro e

microscópicos e fisiológicos os quais estão relacionados a classificação dos vegetais; e fitoquímica que estuda os produtos do metabolismo das plantas e é nos metabólitos secundários que encontramos os princípios ativos, substâncias químicas naturais responsáveis pelas propriedades medicinais das plantas. A fitoquímica, por outro lado pode ser abordada sob diferentes aspectos como o estudo sistemático de sua composição micromolecular com vistas a quimiotaxonomia. Mas, com o estudo das propriedades terapêuticas, a busca do isolamento e identificação dos princípios ativos e a preparação de formulações medicamentosas segundo estes conhecimentos, um novo termo foi introduzido a "fitoterapia" do grego phyton que significa "planta" e therapeuein "cuidar, curar alguém"².

A fitoterapia utiliza fontes naturais que pesquisa os componentes ativos das plantas que são depois extraídos ou produzido por via sintética para fabricar medicamentos.

Os produtos naturais apresentam uma fonte renovável e praticamente inesgotável para obtenção de novos produtos terapêuticos. Apenas 10% das plantas de todo o mundo foram estudadas cientificamente do ponto vista fitoquímico e de sua utilização medicinal. Porém, há uma grande preocupação com os desmatamentos indiscriminados onde muitas espécies vegetais poderão ser extintas sem terem sido estudadas ².

Atualmente as investigações sobre plantas medicinais tem objetivo básico de investigação de novas substâncias de interesse farmacológico e inúmeros ensaios são realizados com animais. A escolha da planta e do órgão a ser estudado, é em geral escolhido conforme o uso popular, raiz, caule, brotos, sementes, planta inteira etc., e de estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos ².

1- Considerações Gerais Sobre o Gênero *Baccharis* :

A família Asteraceae (compositae) apresenta cerca de 920 gêneros. São plantas muito variadas que incluem ervas, subarbustos, trepadeira ou excepcionalmente árvores.

A grande maioria dos gêneros *Baccharis* são constituídas por cerca de 98% de plantas de pequeno porte.

Os órgãos sexuais masculino e feminino são separados apresentando, portanto flores masculinas e femininas, em plantas separadas.

Existe aproximadamente mais de 400 espécies identificadas na América. Do gênero *Baccharis* (Asteraceae) apenas 10% tem sido estudada fitoquimicamente, até neste momento ³.

2 - Posição Sistemática do Gênero *Baccharis*

Família: Compositae

Subfamília: Asteroideae

Tribo(membro): Asterea

Subtribo: Baccharidinae

Gêneros: *Baccharis*

Secção: Cauloptereae

O Gênero *Baccharis* pertence a família "Compositae" e mais recentemente vem sendo descrito como da família Asteraceae ⁴.

Existem cerca de 120 espécies de *Baccharis* no Brasil e aproximadamente 100 na Argentina ⁵. E Matuda publicou 28 espécies encontrada no México ⁶, cerca de 40 na Colômbia ⁷ e 8 novas espécies por Espinar ⁸. 2 espécies foram identificadas no Panamá por Woodson e colaboradores ⁹, e 43 espécies ocorrem no norte da América Central ³, 21 espécies são consideradas nativas nos Estados Unidos ¹⁰.

As *Baccharis* são árvores ou arbustos nativos que ajudam no controle biológico, sendo recomendadas por vários investigadores. De Loach^{8,11}, avaliou 17 plantas nativas importantes para o ecossistema.

As espécies do Gênero *Baccharis* são popularmente conhecidas por carqueja, carque, carqueja amarga, carqueja-amargosa, quina-de-condamine, vassoura, Vassoura-de botão, trinca-de-babado, Vassourinha.

3- Revisão Bibliográfica do Gênero *Baccharis*:

A carqueja é originária do Brasil segundo Martins ¹². A *B. trimera* (less) DC., sendo muito utilizada na indústria de refrigerante e licores e na fabricação de cerveja substituindo o lúpulo. Outra função principal, é regular o funcionamento do fígado e intestino. É empregada também no tratamento da impotência sexual masculina, na esterilidade da mulher e na alimentação do gado para melhorar a fertilidade do rebanho. As principais substâncias isoladas são lactonas diterpênicas do tipo clerodanos e flavonóides ¹³.

Os dados químicos são obtidos pela análise de muitas espécies de *Baccharis*, definindo a correlação entre a química e taxinomia ¹⁴. Um grande número de espécies é estudada fitoquimicamente e pelo dados obtidos faz-se a relação quimiotaxonomia do gênero ¹⁰.

Nos Estados Unidos Meridional 3 arbustos contribuem economicamente; *Baccharis neglecta* britton, *Baccharis halimifolia* L. e *Baccharis salicifolia* (R.& Pag.) Pers.

A *Baccharis halimifolia* L é tóxica, causa cambaleamento ao gado, sintomas trêmulos, convulsivos, diarreia e outros sintomas gastro-intestinais ¹⁰. A investigação química demonstrou que esta toxidez é devido a presença de micotoxinas tricotecnos. Também foi detectada a presença de um glicosídeo cardiotóxico em espécies da Austrália ¹⁵ e da França ¹⁶. É uma planta ornamental na Austrália ¹⁷, França, Espanha ¹⁶, Itália Malaganiga e em 7 áreas geográficas na região do Brasil, na Patagônia e nas Montanhas dos Andes, México ¹⁸. Cresce também na áreas litorânea da Queenslandia (Reino Unido) e no sul do País de Gales ¹⁹.

No Brasil duas espécies tem grande importância na pecuária; *Baccharis megapotamica* Sprengel e *Baccharis coridifolia* DC. Estas tem provocado a intoxicação do gado por ingestão junto com as pastagens. Este problema é atribuído a já conhecida presença de macrociclos tricotecnos altamente tóxicos nestas plantas. Porém há relatos que esta classe de compostos é potencialmente anti-cancerígeno ^{20,21}, principalmente por ser ativo contra leucemia em ratos ²². Nos países da América do Sul tem sido registrado a morte de bovinos e ovinos ao se alimentarem com as folhas da

Baccharis.²³, Uruguai²⁴, e Argentina²⁵. O gado sofre sintomas de anorexia, o modo de andar é afetado, ocorrem tremores musculares, e a morte acontece de 14 á 41 horas depois da ingestão da planta fresca²³. A ovelha e o coelho também são suscetíveis em quantidade tão baixa como de 1 a 2 g por Kg peso causando a morte em 23 a 50 horas, sendo que os sinais clínicos são os mesmos observados no gado.

O Instituto do câncer dos EUA está avaliando nestas espécies de *Baccharis* a presença dos macrociclos tricotecenos como uma nova classe de droga anti-cancer importante. Isolado das folhas de *Baccharis megapotamica* Sprengel o tricoteceno baccharina é tóxico, podendo ser usado no tratamento de leucemia e tumores do cólon de ratos²². Dois grupos de tricotecenos, o roridinas e a verrucarinas, é encontrado em *Baccharis coridifolia* DC. Eles são ativos contra células do tumor do septo nasal humano²⁶. Aproximadamente 100 outras espécies de *Baccharis* foram avaliadas, mas somente algumas contém substâncias químicas anti-cancer semelhantes²⁷.

Jarvis et. al.²⁸ demonstrou que a *B. coridifolia* DC produziu tricotecenos não só produzido pelo fungo, mas também sintetizado depois da polinização da planta fêmea. A concentração mais alta de toxinas está na casca da semente sendo de 0,3 a 5,0%.

Baccharis pilularis ssp e *Baccharis emoryi* Gray de folha cinzenta, é utilizada pelo gado por não possuir sabor e tem baixo valor de nutrientes²⁹. É encontrada na costa Central da Califórnia, e é utilizado para o tratamento da próstata³⁰. Ela aparece nos parques da Baía de São Francisco e campos, dificultando o aparecimento de outros pastos³¹.

A espécie de *Baccharis salicifolia* (R & P) Pers. aparece no verão tendo como característica o cheiro de mel. Já as espécies *Baccharis angustifolia* Michx., *Baccharis glomerulifolia* Pers, e *Baccharis neglecta* DC., são utilizadas como plantas ornamentais e são abundantes no sudoeste dos Estados unidos³². Elas são plantadas ao longo de vias fluviais para controlar a erosão devido ao seu rápido crescimento³³. Popularmente são usadas para lavar o olho e como loção para banho de imersão³⁴.

A *Baccharis sarothroides* & Gray é um arbusto, e possui um papel de recuperação ambiental. É bem distribuída, porém suja muito o local³⁵. No Arizona e Novo México, foram identificados 64 herbívoros que consomem esse tipo de *Baccharis*³⁶. Contém 5 espécies de resinas com terpenóides e flavanoídes que podem

ser atraente aos insetos ³⁷. São utilizadas, pelas abelhas para produzir grande quantidade de mel entre várias áreas no Arizona ³⁸ monitorou o pólen de 12 colmeias durante 5 anos, e identificou a composição obtendo 3.2% de rendimento de colônia.

No sul do Brasil as folhas de *Baccharis dracunfolia* DC, e *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. são utilizadas pela indústria de onde retiram um óleo por arraste a vapor, para fabricação de duas fragrâncias, o óleo da vassoura que possui um sabor picante e aroma de Pimenta ao custo de 50 dólar por Kg. ⁴. A análise química deste óleo rosa mostrou como resultado 47% de um composto oxigenado que e consiste de acetato de carqueja (Aripe S/A) ³⁹.

A *Baccharis crispa* Sprengel, da farmacopéia Argentina (nome "comum carqueja) é citada como um medicamento popular para curar feridas ⁴⁰. Possui atividade antimicrobiana. A partir do extrato etanólico das partes aéreas foi identificado um componente da classe flavanóide genkwanino que é ativo contra; *Bacilo subrilis*, *micrococcus luteus* e *staphylococcus aureus*. A apigenina, outro flavanóide que foi isolado do extrato etanólico mostrou atividade fraca contra esses organismo ⁴⁰

A *Baccharis monaica* DC é a única exceção na América Central que contém na mesma planta um número igual de flor fêmea e macho ⁴¹.

A *Baccharis callaenis tricuneata* Cuatr (fêmea), *Baccharis latifolia* (R&P) Pers. ⁴² e *Baccharis pingraea* DC ⁸ são 3 espécies de plantas diplóides com 9 cromossomas.

Na *Baccharis consanguinea* (DC), a produção de folha é numerosa de abril a setembro e a perda de folhas é maior no outono que no inverno. O sistema de raiz apresenta grande armazenamento de carboidratos e captura de água ⁴³.

A *Baccharis brachyplylla* Gray, é um arbusto lenhoso encontrado nos Estados Unidos meridional. As taxas fotossintéticas são maiores na primavera e outono, e ramos desta planta permanecem verdes durante o ano produzindo 83% de carbono líquido ⁴⁴.

A *Baccharis glomeruliflora* Pers. e *Baccharis angustifolia* Michx, são dois arbustos nativos na comunidade salgada do Pântano na Florida e na Carolina do Norte ⁴⁵.

A *Baccharis rosmarinifolia* Hook. & Arn, são arbustos que são consumidos por roedores em qualquer lugar onde não apresenta plantas grande ⁴⁶.

A *Baccharis donglasii* DC, é utilizada pelos índios Norte Americanos que usam algumas substância químicas naturais para cura, e a *Baccharis terightii* DC é usada sob forma de inalação para a cura da dor de cabeça e cerimônias como um efeito emético ⁴⁷.

Na **Tabela I** apresenta-se um resumo das espécies de *Baccharis* estudadas, seu uso popular, atividades testadas e compostos isolados.

TABELA - I: Resumo dos dados de literatura com respeito a uso popular, atividade e compostos isolados de espécies de Baccharis

<i>Planta</i>	Uso Popular	Atividade Testada		Compostos isolados	*
<i>B.articulata</i> (lam.)Pers	Anti-séptica, digestiva, Diurética Contra gota Tônica Estimulante	Abortiva	+	Articulina Articulina acetato Bacchotricuneatina Luteolina, Quercetina Salvigenina, Acacetina Apigenina , Genkwanina Apigenina 4',7-dimetoxi Barticuloidiol Clerodanos	33
<i>B.boliviensis</i> (Wedd)Malagarriga	nd	Antitripanossoma Antioxidante	+ +	Catequina, Morina Quercetina, Clerodanos	48
<i>B.coridifolia</i> DC	Anti-flamatorio	Tóxica	+	-	49
<i>B.concava</i> (R.et.P.) Pers.	Nd	Citotóxica	-	Salvigenina Pectolinarigenina	20
<i>B.confertifolia</i> Bert.ex Colla	Nd	Citotóxica	-	-	50
<i>B.cilindrica</i> DC	Tônico Estimulante Gástrica	Abortiva	+		51

<i>B. crispa</i> Sprengel	Lavar, Desinfetar Feridas Furúnculos	Antibacteria Antiviral	+	Bacrispina	52
				1-D-Oxibacrispine	42
				Ácido Hautriwaico	53
				Luteolina 4'7'- dimetil éter	54
				Crisiliol, Genkwanina Apigenina 4',7-dimetil éter	55
<i>B. dracunculifolia</i> DC	Anti-reumatica Febrifuga	Tóxico	-	nerolidol	20
<i>B. decussata</i> (Klatt) Hieron	-	Antiinflamatório	+	flavonas	56
<i>B. genistelloides</i> (Lam.) Pers.	Antidiabetico	Antiinflamatório	+	Germacrano D	52
				7 α ,16,19-Trihidroxi-	56
				cloredan-3,14-dien-15,20-	55
				dioico ácido dilactona	57
				6,10,14 Trimetil-1,2	
				etilideno-pentadecanol	
				Ácido nor tetra diterpeno	
				Kaenferol, Quercetina	
				Stigmasta-7,2,2-dien-3-ol	
				3,4-Dimetoxi-ácido cinâmico benzil éster Crisimaritina, Eriodictol Hispidulina	
<i>B. grandicapitilata</i> Hieron	Reumatismo	Abortiva	+	-	58
	Aborto	Anti-reumatica	+	-	
<i>B. glutinosa</i> Pers	Cresce o cabelo Menorragia Hemorragia Antifertilidade	Antiinflamatorio	-		59

<i>B. halimifolia</i> L	Nd	Antiflamatório Carcinogenica	- -	Oxido de baccharina	60
<i>B. linearis</i> (R&P) Pers	Nd	Citotóxica	-	Acido oleanolico Alcaloides	61
<i>B. incanum</i> Wedd	Disordes de doenças hepatica Dores reumática	Antiflamatório Antireumatica	+ +	Flavanoides Neo-cloredanos Furocloredanos	57
<i>B. microcephala</i> (Less) DC	Tônica Gástrica Estimulante	Abortiva	+	Spatulenol 16,19-Dihidroxi-3,4- diiclorado-15,20-dioico Luteolina Luteolina 7-metil éter	62
<i>B. meggallanica</i> (Lam) Pers.	Nd	Citotóxica	-	-	63
<i>B. megapotamica</i> Sprengel	Persuadir alimentação dos insetos	Citotóxica	+	Tricotecenos Megapodial clerodanos	27
<i>B. nivalis</i> Sch. Bip	Nd	Antibacteriana Antiveral	+ -	-	63
<i>B. notoserigila</i> Grisebach	Tonico, Estimulante Digestivo	Anti-reumático	+	Flavonoides clerodanos	55
<i>B. oxyodonta</i> DC	Nd	Antibacterial	-	Flavonas Oxide de Baccharina	64
<i>B. paniculata</i> DC	Nd	Citotoxico	-	-	63
<i>B. patagonica</i> Hook. &	Nd	Citotóxico	-	Flurocloredano Oxido de Baccharina	14
<i>B. pedicellata</i> DC	Nd	Antibacteriana citotoxico	+ -	Neo-clerodanos	50
<i>B. pluralis</i> Subsp.	Remédio em geral	Antibacteriana Antireumatica	+ +	-	59
<i>B. racemosa</i> DC.	Nd	Citotóxica	+	-	

		Antibacteriana	-		50
<i>B.rhomboidalis</i> DC.	Nd	Citotóxico	-	Acido Oleanolico Neo-clorodano	65
<i>B.sagittalis</i> (Less) DC.	Nd	Antibacteriana	+ -	-	63
<i>B.sarothroides</i> Gray	Feridas Perdas de cabelos	Antibacteriana	+	Acido Oleanolico Acido hautriwaico Cloredanos, Labdanos	66
<i>B.sphaerocephala</i> H.et A.	Nd	Citotoxico	-	-	63
<i>B.trimera</i> Less.	Digestiva Problemas hepática (figado)	Antiinflamatoria Antibacteriana Antipatotoxica	+	7 α -Hidroxi-15,16 - diacetoxi -18-malaniloxi - entcloredan -3- ene 16,19 - dihidroxi -3,4- dihiclorado -15,20-dioico ácido dilactona Kamferol, Luteolina Neptina, Quercetina Eupatorina, Hispidulina	67 34 68
<i>B.trinervis</i> (lam.) Pers.	Picada de cobra Antisetico, Digestiva Inflamação Febre, Vertigem Câimbra	Molusticida Germinação da Planta	+	Ent-labdanos Kauranos Flavanoides	69
<i>B.umbellifora</i> DC.	Nd	Antibacteriana Citotoxica	- +	-	50

* Observação: nd = Não determinado.

4 - Flavonoides no Gênero *Baccharis*

Conforme pode ser observado na tabela I, é grande a ocorrência de flavonóides no Gênero *Baccharis* daí sua importância do ponto de vista quimiotaxonômico^{69,70}.

Os flavonoides são uma classe de metabólitos secundários que apresentam um esqueleto fundamental C₆-C₃-C₆ provenientes das duas principais vias metabólicas a do ácido shikímico e do acetato Esquema I.

A cinamoil CoA proveniente da desaminação da alanina seguida de esterificação com a HSCoA, sofre a incorporação de três unidades de malonil-CoA. A porção proveniente da malonil-CoA sofre aromatização originando o anel "A" do flavonoide. A ciclização da chalcona resultante é enzimaticamente controlada já que as flavanonas são opticamente ativas⁷⁰.

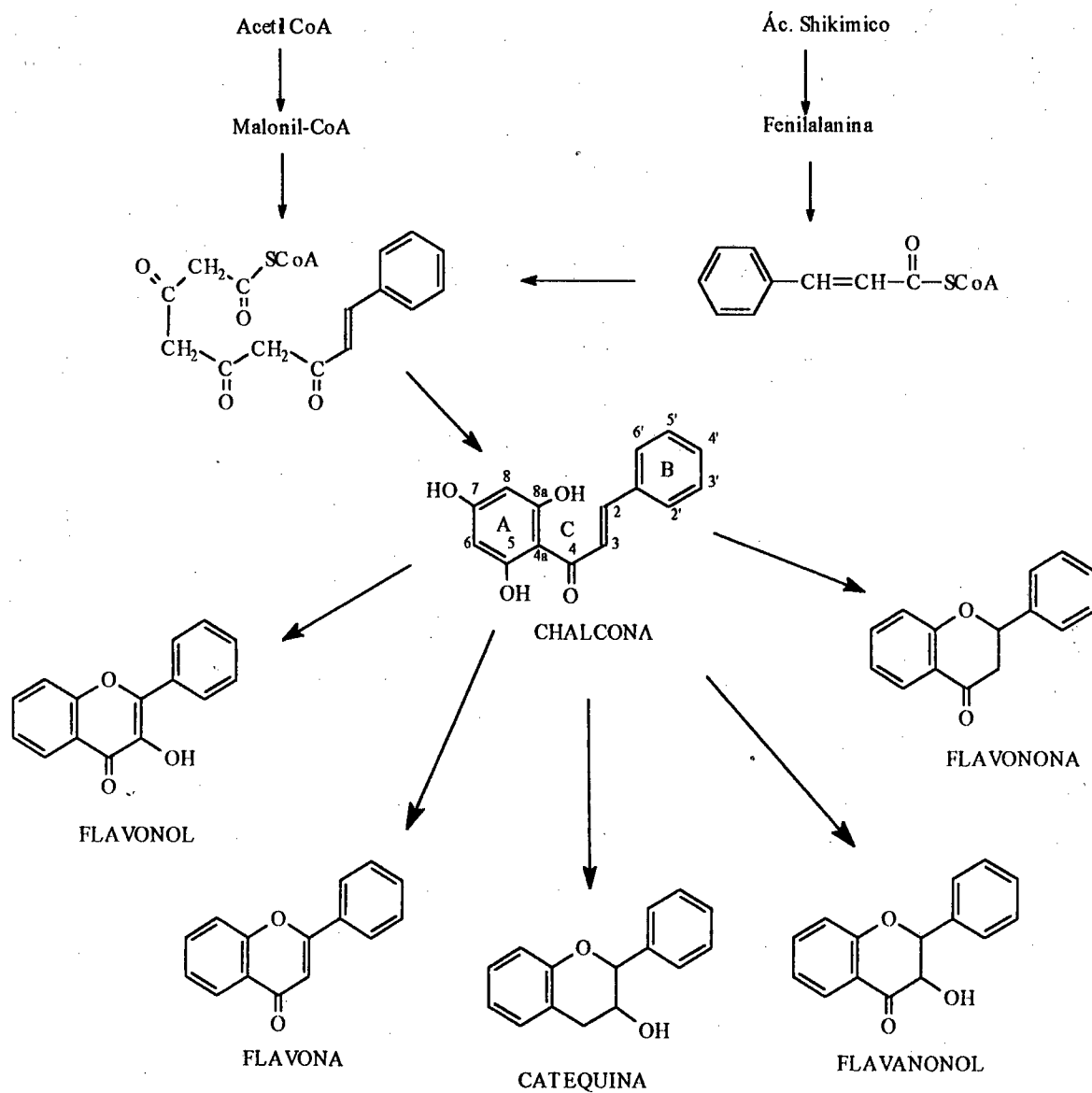
Os anéis "A" e "B" dos flavonoides podem apresentar uma gama variada de substituintes tais como; grupos hidroxí, metoxi, preniloxi, metil, prenil, acetil, O-açúcares, C-açúcares, etc. Como pode ser observado no esquema biossintético (Esquema I), o anel "A" geralmente apresenta um padrão de substituição 5,7-dihidroxí e as hidroxilas podem se apresentar metiladas, preniladas ou glicosiladas⁶⁹.

As diferentes classes de flavanóides são distinguidas pelo anel "C" e podem ser facilmente reconhecidas através dos padrões de absorção característicos nos espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C. A primeira observação no espectro de RMN ¹H que indica uma estrutura flavonoídica é a presença de um singlete na região de 11-13 ppm relativo ao OH quelado do carbono C-5, juntamente com a observação de prótons aromáticos e de uma carbonila conjugada que pode ser observada no espectro de IV ou RMN ¹³C⁷⁰.

As flavononas apresentam um típico sistema de spin ABX na forma de três duplos dupletos na região de 3 a 5,5 ppm do espectro de próton. No carbono-13 são observados um sinal para CH na região de 75-80 ppm e um sinal para CH₂ na região de 40-45 ppm, referentes ao grupamento O-CH-CH₂-CO⁷⁰.

Os flavanonóis apresentam um par de dupletos na região de 5-6 ppm no espectro de RMN ¹H, cuja constante de acoplamento pode definir a estereoquímica relativa dos grupamentos fenila e hidroxila. No espectro de RMN ¹³C o carbono C-2 absorve na região de 80-85 ppm e o C-3 na região de 70-75 ppm⁷⁰.

ESQUEMA - I: Rota biossintética dos flavonoides



As flavonas são caracterizadas por um singlete relativo ao H-3 que absorve na região de 7 ppm do espectro de RMN ^1H e 160-164 ppm para C-2 e 100-115 ppm para C-3 no espectro de RMN ^{13}C ⁷⁰.

Nos flavonóis, que não apresentam hidrogênios no anel "C", o espectro de próton é caracterizado pela ausência de tais sinais e no carbono-13 são observados sinais na região de 143-156 ppm e 133-140 ppm para os carbonos C-2 e C-3 respectivamente ⁷⁰.

As catequinas se caracterizam por apresentarem um sistema mais complexo de absorção na região de prótons alifáticos e a ausência do sinal característico de OH quelado que aparece na região de 11-13 ppm. No espectro de RMN ^1H são observados a presença de dois carbonos sp^3 oxigenados na região de 76-83 ppm e 65-70 ppm para os carbonos C-2 e C-3 respectivamente. Também se observa a ausência sinais referente a carbonila e um sinal para o carbono C-4 (CH_2) na região de 26-32 ppm ⁷⁰.

OBJETIVOS

- Isolar e identificar as estruturas dos constituintes químicos das espécies vegetais *Baccharis pseudotenuifolia* DC, *Baccharis ligustrina* DC e *Baccharis platypoda* DC, através de estudos espectroscópicos de IV. EM. e RMN ^1H e ^{13}C .
- Avaliar as atividades biológicas através da ação antimicrobiana dos extratos das espécies vegetais estudadas e dos compostos isolados.
- Contribuir para a quimiotaxonomia do gênero *Baccharis*.

PARTE EXPERIMENTAL

1 - Materiais e Métodos

Os solventes utilizados nos procedimentos de extração e purificação foram todos de grau analítico.

As determinações dos pontos de fusão das substâncias puras foram realizadas com Aparelho de Ponto de fusão APF- 301 da marca Microquímica., e não sofreram correções.

Nos fracionamentos e separações cromatográficas foi usado sílica gel como adsorvente. Nas cromatografias em coluna (CC) foi usado sílica gel Merck e/ou Riedel de granulometria 0.063-0,2mm. Para cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram usadas cromatofolhas Al de sílica gel 60 em uma camada de 0,2 mm de espessura (Merck).

Os sistemas de solventes para a eluição da cromatografias em coluna e em camada delgada foram as especificadas em cada caso.

As substâncias separadas nas placas cromatográficas foram visualizadas utilizando vários métodos: revelação em câmara de iodo, revelação com reagente cloreto férrico e revelação com reagente anisaldeído-sulfúrico seguido de aquecimento a 110 °C. O reagente anisaldeído-sulfúrico foi preparado do seguinte modo: A 9 mL de etanol foram adicionados sequencialmente, com agitação e banho de gelo, 0,5 mL de ácido sulfúrico (conc.), 0,1 ml de ácido acético glacial e 0,5 ml de anisaldeído. O reagente foi estocado sob refrigeração.

Os solventes usados nos extratos e nas frações obtidos das cromatografia em coluna foram evaporados sob pressão reduzida em um evaporador rotatório.

A identificação das substâncias por comparação direta envolveu CCDA, empregando-se mínimo 3 sistemas de solvente. As misturas de solventes foram feitas volume por volume (v/v).

Os espectros de absorção na região do IV foram obtidas em um espectrômetro Perkin Elmer FT modelo 16 PC, utilizando-se filme em placas de cloreto de sódio ou

pastilha comprimida de brometo de potássio anidro. Os valores para as absorções foram medidos unidade cm^{-1} e os espectros foram calibrados com filme de Poliestireno de 0,5 mm de espessura, utilizando-se absorção 2851 e 601 cm^{-1} e 1601 como referência.

Os espectros de massas foram obtidos por inserção direta (prob) em espectômetro Shimadzu QP-2000 A, com ionização sob impacto de elétrons a 70 eV

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos, a 200 MHz (RMN ^1H) e 50 MHz (RMN ^{13}C) em aparelho Brucker AC-200 F, e a 300 MHz (RMN ^1H) e 75 MHz (RMN ^{13}C) em Espectômetro Varian Gemini Vx R-300 F. Os solventes utilizados para a obtenção dos espectros foram CDCl_3 , Acetona d_6 , Piridina d_5 e Metanol d_4 . Os deslocamentos químicos foram expressos em valores adimensionais δ (ppm) em relação a um padrão interno de tetrametil silano (TMS). As constantes de acoplamento (J) foram expressas em Hertz (Hz). As multiplicidades dos sinais são indicadas como segue: s = singlete; d = duplete; dd = duplo duplete; t = triplete e m = multiplete.

As técnicas de ressonância utilizadas na identificação dos compostos isolados foram RMN ^1H , RMN ^{13}C , DEPT, APT, COSY, HETCOR, DIFNOE, INEPT seletivo.

2 - Coleta e Identificação das Espécies estudadas

A espécie *Baccharis pseudotenuifolia* DC (folha) foi coletada nos arredores de Porto Alegre, Capital do Estado do Rio Grande do Sul, e cedido pela UFRGS, pelo Professor Dr. Eloir Paulo Schenkel, coordenador do Curso de Pós-Graduação em Farmácia e Bioquímica. A identificação do material coletado foi feita pelo Prof. Nelson Matzembacher do Departamento de Ciência Biológicas da Pontifícia da Universidade Católica de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. A excicata (ICN) Nº .83050 e 535773 encontra-se depositada no Departamento de Botânica do Instituto de Biociência da UFRGS.

A espécie *Baccharis ligustrina* DC (folhas e caule) coletada em 1990 na Rua das Lages e identificada bem como pelo botânico Dr. J. Badini, com excicata existente no Herbario da UFOP, o extrato foi obtido em janeiro de 1990, número OUPR 1797.

A espécie *Baccharis platypoda* DC (inflorescência, folhas e madeira) foi coletada na serra do Facão município de Ouro Preto sendo identificado o gênero pelo botânico Dr. José Badini coletado pelo Professor Dr Alsemo Alpandes em fevereiro de 1990 nomearam a espécie da planta e catalogada no herbário do Departamento botânica da Universidade Federal de Ouro Preto. Uma excicata da *Baccharis Platypode* DC (NºOUPR 4888) foi depositada na Universidade Federal de Ouro Preto o extrato por feito, em janeiro de 1992 da folha e caule.

3 - Obtenção dos Extratos

Todos os extratos vegetais foram obtidos por maceração em um determinado solvente da planta seca e moída.

A secagem das plantas foi realizada a temperatura ambiente e ao abrigo direto da luz solar, em ambiente seco e arejado.

A planta seca, 1,28 Kg de *Baccharis pseudotenuifolia* DC, foi submetida a uma maceração durante 15 dias com uma quantidade de 8 l de clorofórmio. Após este período o solvente foi percolado, filtrado e evaporado sob pressão reduzida e temperatura controlada em um evaporador rotatório para obter 286 g de extrato de clorofórmio. O bagaço resultante foi re-extraído por maceração com 7 litros de metanol, resultando na obtenção de 1,12 kg do extrato metanólico.

Os extratos brutos das espécies *B. ligustrina* DC e *B. platypoda* DC, foram gentilmente fornecidos pelo Prof. Dr. Anselmo Alpande Moraes da UFRRJ, os quais foram obtidos por maceração da planta seca e moída.

4 - Fracionamento do Extrato Etanólico das Folhas de *B. ligustrina* DC

O Extrato bruto etanólico das folhas de *Baccharis ligustrina* DC(16,2 g) foi pré-fracionado por filtração em um leito de carbonato de cálcio-carbonato de sódio utilizando como eluente éter de petróleo, clorofórmio e metanol. Este procedimento

resultou na obtenção de três sub-extratos; de éter de Petróleo (2,37 g), clorofórmio (4,75 gr.), e metanólico (3,19 g) e resultando ainda uma fração resinosa (5,27 g).

4.1 - Sub-extrato de Clorofórmio

O sub-extrato de clorofórmio, foi submetido novamente uma filtração em leito de celite eluída sucessivamente com hexano: diclorometano (1:1) e diclorometano: metanol (1:1) resultando em uma fração lipofílica (1,61 g) e uma hidrofílica (3,13 g) respectivamente. A fração lipofílica constitui-se essencialmente de óleos e ceras.

A fração hidrofílica foi cromatografada em coluna de sílica gel e eluída com misturas de hexano e acetato de etila para obter um gradiente de polaridade crescente. Foram coletadas 40 frações, as quais foram reunidas conforme suas similaridades por CCDA. As frações 10-25, que deram reação positiva com o reagente anisaldeído-ac. sulfúrico, foram reunidas e recromatografadas em coluna de sílica gel eluída com hexano-AcOEt (4:1), resultando no isolamento de dois triterpenos:

Ácido Oleanólico (2)

Purificado por recristalização em hexano-acetato de etila e obtido na forma de cristais brancos.

P. F.: 289- 291 °C,

I. V. ^{KBr} λ_{\max} : 3476, 2944, 1694, 1464, 1386, 1274, 1182, 1084, 1034;

E. M. (70 ev) m/z (%): M^+ 456 (5), 395 (5), 300 (6), 248 (100), 203 (95), 133 (28), 119 (20), 69 (15);

NMR ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ : 0,77 (3H, s), 0,78 (3H, s), 0,90 (3H, s), 0,91 (3H, s), 0,93 (3H, s), 0,98 (3H, s), 1,14 (3H, s), 1,26(3H, s), 1,00-2,00 (m), 2,83 (1H, dd, J=14,0 e 3,9 Hz, H-11), 3,19 (1H, tl, J=6,8 Hz, H-11), 5,27 (1H, m, H-12),

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 15,30; 15,52; 15,53; 17,11; 23,55; 25,91; 28,07; 33,05 (CH_3); 18,27; 22,89; 23,37; 27,14; 27,65; 32,41; 32,58; 38,36; 45,84 (CH_2); 40,95; 47,60; 55,17; 79,02; 122,60 (CH); 30,65; 37,05; 38,23; 39,23; 41,57; 46,50; 143,57; 183,0 (C)

Ácido Ursólico (1)

Purificado por recristalização em hexano-acetato de etila e obtido na forma de cristais brancos

P. F.: 237 - 239°C;

IV $^{\text{KBr}}$ λ_{max} cm^{-1} : 3426, 2926, 2858, 1688, 1458, 1384;

E.M. m/z (%): M^+ 456 (22), 411(20), 300(28), 248(100), 207(80), 203(50), 133(52);

NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0,77 (3H, s), 0,86 (3H, d, $J=5,4$ Hz), 0,95 (3H, s), 0,97 (3H, d, $J=6,3$ Hz), 0,98 (3H, s), 1,09 (3H, s), 1,26 (3H, s), 1,3-1,6 (m), 1,90 (1H, dd, $J=8,7$ e $3,4$, H-11), 2,19, (1H, dl, $J=11,5$ Hz, H-11), 3,19 (1H, tl, $J=7,4$ Hz, H-3), 5,2 (1H, t, $J=2,8$ Hz, H-12),

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 15,09; 15,29; 16,56; 16,69; 18,04; 20,81; 22,99; 23,94; 23,21; 26,48; 27,70; 27,71; 30,41; 32,78; 36,57; 36,64; 38,41; 38,42; 38,65; 38,82; 39,19; 41,79; 47,25; 47,92; 52,57; 55,00; 78,51; 125,24; 137,92; 180,37

4.2 - Sub-Extrato Metanólico

O Sub-extrato metanólico foi cromatografado em coluna de sílica gel e eluído com misturas de hexano-AcOEt, na forma de gradiente crescente de polaridade. Este fracionamento resultou no isolamento de dois flavonoides; a naringenina (**3**) e 4'- OH-Wogonin (**4**).

Naringenina (3)

As frações 15-17, que mostraram reação positiva com FeCl_3 , foram reunidas e após sucessivas recristalizações em acetona resultou no isolamento de 5,7,4'-flavanona (Naringenina) na forma de cristais amarelos com P. F.: 289- 291 °C. Os demais dados espectroscópicos são idênticos aos do composto isolado das frações 15-16 do Extrato cloroformico da inflorescência de *B. Platypoda* DC, descrita no item 6.1.

4'-OH-wogonin (4)

As frações coletadas com o sistema de solventes hexano/AcOEt (7:3) foram reunidas conforme suas similaridades por CCDA revelada com FeCl_3 . Após sucessivas recristalizações em acetona, foi isolado o flavonoide 5,7,4'-trihidroxi-8-metoxiflavona (4'-OH-wogonin) na forma de cristais amarelos.

P. F.: 292-294 °C

I. V. ^{KBr} λ_{max} : 3406, 3334, 3092, 2942, 2824, 1652, 1610, 1582, 1550, 1492, 1370.

DIFNOE: Irr. δ 6,93 (H_6) resposta positiva 13,95 OH quelado

NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) 3,99 (3H s), 6,95 s 6,93 s, 7.96 d ($J=8,4$ Hz), 7.25 d ($J=8,4$ Hz), 13.95 s; NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz), APT e LR, tabela abaixo:

5 - Fracionamento do Extrato Clorofórmico das Folhas de *Baccharis pseudotenuifolia*

O extrato bruto clorofórmico das folhas de *Baccharis Pseudotenuifolia* DC foi separado em dois sub-extratos, o de CHCl_3 e MeOH por filtração em leito de carbonato de cálcio.

5.1 - Sub-Extrato de CHCl_3

O *Sub-Extrato de CHCl₃*, foi fracionado em coluna de sílica gel eluída com o sistema de solventes hexano/AcOEt com gradiente crescente de polaridade. As frações obtidas foram reunidas conforme suas similaridades, por CCDA, reveladas com iodo, FeCl₃ e anisaldeído- ácido sulfúrico. Desta forma, obteve-se duas frações na forma de sólido amorfo amarelado. Após purificações por sucessivas recristalizações em hexano/acetona, obteve-se o esterol spinasterol e do triterpeno ácido oleanólico:

α-Spinasterol: (5)

P. F.: 289- 291 °C,

I.V.^{KBr} λ_{max} : cm⁻¹: 3446, 2920, 2820, 2948, 1466

E. M. (70 ev) *m/z* (%): M⁺ 412[M⁺] (23), 397(15); 368(18), 300(25), 271(100), 255(50), 107(30), 81(60), 69(40).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0,55 s (3H, Me-18); 0,80 d (3H, J=6,4 Hz, Me-27); 0,80 t (3H, J=7.3 Hz, Me-29); 0,85 d (3H, J=6,3 Hz, Me-26); 1.02 d (3H, J=6,6 Hz, Me-21); 3.59 m (1H, H-3); 5.03 dd (1H, J=15.2 Hz, H-23); 5.16 dd (1H, J=15.2 Hz, H-22); 5.14m (1H,H-7)

RMN ¹³ C/APT (75 MHZ, CDCl₃) δ (ppm): 12.03 (CH₃-18); 12.24 (CH₃-29); 13.03 (CH₃-19); 18.96 (CH₃-27); 21.09 (CH₃-26); 21.36 (CH₃-21); 21.51 (CH₂-11); 22.99 (CH₂-15); 25.38 (CH₂-28); 28.50 (CH₂-16); 29.59 (CH₂-6); 31.41 (CH₂-2); 31.85 (CH₂-25); 34.17 (CH₂-10); 37.09 (CH₂-1); 37.92 (CH₂-4); 39.41 (CH₂-12); 40.20 (CH₂-5); 40.83 (CH₂-20); 43.24 (C-13); 49.38 (CH-9); 51.21 (CH-24); 55.08 (CH-14); 55.82 (CH-17); 71.03 (CH-3); 117.42 (=CH-7); 129.37 (=CH-23); 138.16 (=CH-22); 139.52 (=CH-8).

Ácido Oleanólico: (2)

P. F.: 289- 291 °C.

I. V. ^{KBr} λ_{max} : 3476, 2944, 1694, 1464, 1386, 1274, 1182, 1084, 1034;

E. M. (70 ev) m/z (%): M^+ 456 (5), 395 (5), 300 (6), 248 (100), 203 (95), 133 (28), 119 (20), 69 (15)

NMR ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ : 0,77 (3H, s), 0,78 (3H, s), 0,90 (3H, s), 0,91 (3H, s), 0,93 (3H, s), 0,98 (3H, s), 1,14 (3H, s), 1,26(3H, s), 1,00-2,00 (m), 2,83 (1H, dd, $J=14,0$ e $3,9$ Hz, H-11), 3,19 (1H, t, $J=6,8$ Hz, H-11), 5,27 (1H, m, H-12),

NMR ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) δ : 15,30; 15,52; 15,53; 17,11; 23,55; 25,91; 28,07; 33,05 (CH₃); 18,27; 22,89; 23,37; 27,14; 27,65; 32,41; 32,58; 38,36; 45,84 (CH₂); 40,95; 47,60; 55,17; 79,02; 122,60 (CH); 30,65; 37,05; 38,23; 39,23; 41,57; 46,50; 143,57; 183,0 (C)

5.2 - Sub-Extrato Metanólico

O *Sub-Extrato Metanólico*, foi cromatografado em coluna de gel de sílica e eluída com misturas hexano-AcOEt na forma de gradiente crescente de polaridade. As frações que deram reação positiva com FeCl₃ foram reunidas e recromatografadas em coluna de Sephadex LH-20. Este procedimento resultou no isolamento de 5,7,4'-trihidroxi-8-metoxiflavona (4'-OH-wogonin) e 5,7,3',4'-tetraidroxiflavanol (quercetina) e na separação de uma mistura dos glicosídeos quercetina-3-O-raminosídeo e quercetina-3-O-glucosídeo.

4'-OH-wogonin (4)

Foi purificado por recristalização em acetona da fração BP-32, apresentando dados espectroscópicos idênticos aos descritos no item 4.2.

Quercetina: (6)

P. F.: 289- 291 °C,

NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 6,27 d ($J=2,0$ Hz), 6,53 d ($J=2,0$ Hz), 7,00 d ($J=8,5$ Hz), 7,71 dd ($J=2,0$ e 8,5 Hz), 7,83 d ($J=2,0$ Hz), 12,19 s.

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 94,39; 99,09; 104,00; 115,69; 116,15; 121,40; 123,70; 136,50; 145,77; 147,50; 148,27; 156,70; 157,50; 164,93; 182,69

6 - Fracionamento dos Extratos Brutos de *Baccharis platypoda* DC**6.1 - Fracionamento do Extrato de CHCl_3 da Inflorescência de *Baccharis platypoda* DC.**

O extrato bruto CHCl_3 da inflorescência de *Baccharis platypoda* DC, foi submetido a um fracionamento em coluna de sílica gel com dimensão de 80 cm de altura por 5cm de diâmetro e eluída inicialmente com hexano seguido de um gradiente hexano-AcOEt-Metanol. Foram coletadas 30 frações e reunidas segundo sua similaridade por ccf revelada em cuba de iodo e com os FeCl_3 e anisaldeído-ácido sulfúrico. Este procedimento resultou na obtenção dos seguintes compostos.

Ác. Kaurenóico: (9)

Isolado na forma de cristais incolores por recristalização em hexano das frações 2-4.

P. F.: 145-147 °C.

I. V. $^{\text{KBr}}$ λ_{max} : 3450, 3066, 2928, 2850, 1692, 1458, 1258, 870;

NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0,95 (Me-20), 1,24 (Me-18), 10-1,6 (7 CH_2) 1,82-2,0 (H-5, H-8, H-9), 2,13 ($\text{H}\alpha$ -15), 2,17 ($\text{H}\beta$ -15), 2,63 (H-13), 4,74 e 4,79 (2H-exometileno)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 40,68 (C1), 19,07 (C2), 37,75 (C3), 43,72 (C4), 57,04 (C5), 21,81 (C6), 41,26 (C7), 44,21 (C8), 55,09 (C9), 39,67 (C10), 18,41 (C11), 33,08 (C12), 43,83 (C13), 39,67 (C14), 48,99 (C15), 155,84 (C16), 102,98 (C17), 28,94 (C18), 164,57 (C19), 15,57 (C20).

Naringenina-7-OMe (13)

Isolada na forma de cristais amarelos por recristalização em acetona das frações 5-8

NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 3,69 (MeO-7), 2,89 dd, $J=17,09$ e $3,02$ Hz ($\text{H}\beta$ -3), 3,29 dd $J=17,09$ e $12,7$ Hz ($\text{H}\alpha$ -3), 5,49 dd $J=12,7$ e $3,02$ Hz (H-2), 6,23 d $J=2,3$ Hz (H-6), 6,33 d $J=2,3$ (F-8), 7,24 2H d $J=8,6$ Hz (H-2',6'), 7,55 2H d $J=8,6$ Hz (H-3',5'),

DIFNOE: irr. δ 3,69 reposta positiva para δ 6,23 e 6,33; irr. 6,23 reposta positiva para δ 3,69; irr. δ 6,33 reposta positiva para δ 3,69;

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 43,08; 55,37; 79,49; 94,22; 95,22; 103,33; 116,24; 128,59; 129,39; 159,37; 163,46; 164,44; 168,59; 196,82

Baur-7-en-3 β -ol (10)

Isolado na forma de cristais brancos por recristalização em hexano./AcOEt das frações 10-14.

P. F.: 165-167 °C

I. V. $^{\text{KBr}}$ λ_{max} : 3384, 2932, 2864, 1646, 1462, 1372, 1032;

EM (70 eV) m/z (%): M^+ 426 (55), 411 (52), 393 (22), 247 (25), 225 (23), 109 (42), 95 (60), 69 (72), 55(90), 43 (100);

NMR ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ : 0,74, 0,85, 0,90 d, 0,96, 0,99, 1,03, 1,05 d, 0,8-1,7, 2,15 (2H-6), 3,25 ($\text{H}\alpha$ -3, dd, $J=10$ e $4,3$ Hz), 5,41 (H-7);

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 12,98; 14,65; 16,81; 22,55; 22,66; 23,65; 24,15; 25,64; 27,54; 27,68; 28,87; 29,22; 29,69; 31,53; 32,04; 32,44; 35,20; 35,34; 36,88; 37,70; 37,99; 38,87; 41,23; 48,23; 50,42; 54,90; 79,24; 116,44; 145,33

Naringenina: (12)

Isolada por recristalização em acetona das frações 15-16 na forma de cristais amarelos.

P. F.: 289-291 °C,

I. V. $^{\text{KBr}}$ λ_{max} : 3666, 3284, 1632, 1604, 1518, 1498, 1460, 1360, 1313;

EM (70 eV) m/z (%): M^+ 272 (55), 153 (100), 120 (75), 91 (35), 69(45);

NMR ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ : 2,53 (1H, dd, $J=17,0$ e 2,9 Hz, $\text{H}\beta\text{-3}$), 3,10 (1H, dd, $J=17,0$ e 12,9, $\text{H}\alpha\text{-3}$), 5,36 (1H, dd, $J=12,9$ e 2,9 Hz, H-2), 5,98 (2H, s, H-6,8), 6,9 (2H, $J=8,5$ Hz, H-2',6'), 7,33 (2H, d, $J=8,5$ Hz, H-3',5'), 12,09 (1H, s, H-quelado);

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 43,33; 79,35; 95,61; 95,67; 97,30; 102,84; 115,86; 128,25; 129,29; 129,98; 130,65; 157,95; 163,66; 164,67; 166,74; 196,31

Quercetina-3'-OMe: (14)

Isolada da fração 18 na forma de um sólido amorfo de coloração amarelada

P. F.: 289- 291 °C,

NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 3,94 (3H, s, MeO-3'), 6,26 (1H, d, $J=2,07$ Hz, H-8), 6,56 (1H, d, $J=2,07$ Hz, H-6), 7,82 (1H, dd, $J=8,5$ e 2,0 Hz, H-6'), 7,00 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H-5'), 7,90 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-2'), 12,18 (OH-quelado)

DIFNOE: irr. δ 3,94 reposta positiva para δ 7,0; irr. δ 7,0 reposta positiva para δ 3,94;

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 99,12; 94,52; 128,96; 116,02; 116,12; 122,7

β -amirina (11)

Isolada das frações 22-24 na forma de um sólido branco amorfo

NMR ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ : 0,77 s; 0,81 s; 0,90 s; 0,93 s; 0,94 s; 0,96 s; 1,15 s; 1,28 s; 1,2-2,1 m; 3,11-3,15 m; 5,23 tl;

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 15,89; 16,31; 17,71; 19,50; 23,98; 24,05; 24,51; 26,40; 27,86; 28,74; 28,83; 30,76; 31,60; 33,57; 33,80; 34,01; 34,89; 38,16; 39,82; 42,71; 43,02; 47,23; 47,60; 56,75; 57,06; 79,69; 123,64; 147,17

6.2 - Fracionamento do Extrato CHCl_3 da Casca de *Bacchares platypoda* DC.

O fracionamento do extrato da Madeira de *Bacchares platypoda* DC em coluna sílica gel foi feita com gradiente de hexano/AcOEt resultou no isolamento de 5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavona (Apigenina-7-OMe).

Apigenina-7-OMe (15)

I. V. $^{\text{KBr}}$ λ_{max} : 3750, 2920, 2850, 1666, 1606, 1502;

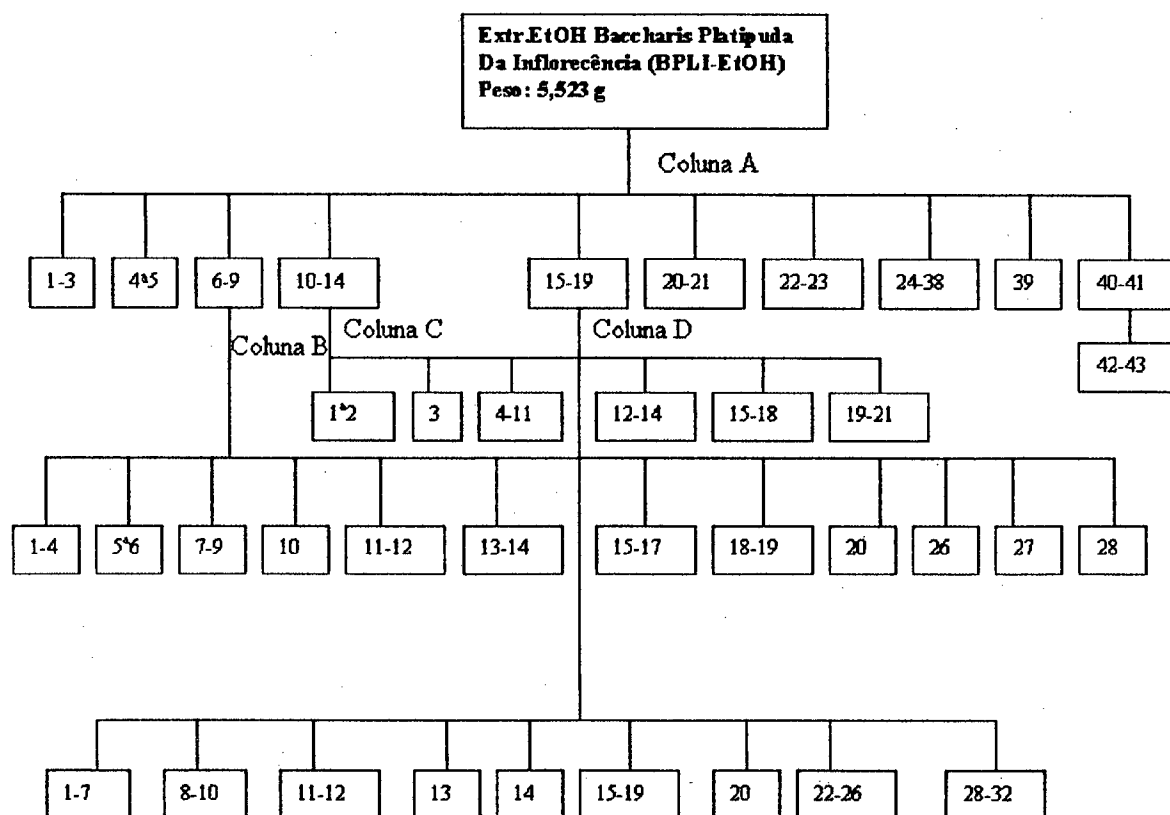
NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 3,79 (3H, s, MeO-7), 6,64 (1H, d, $J=2,2$ Hz, H-8), 6,73 (1H, d, $J=2,2$ Hz, H-6), 6,96 (1H, s, H-3), 7,29 (2H, d, $J=8,8$ Hz, H-2',6'), 7,97 (2H, d, $J=8,8$ Hz, H-3',5'), 13,69 (1H, s, OH-quelado);

DIFNOE: irr. δ 3,74 reposta positiva para δ 6,73 e 6,64; irr. δ 6,73 reposta positiva para δ 3,74; irr. δ 6,64 reposta positiva para δ 3,74;

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 93,9; 98,6; 102,3; 103,6; 116,0; 116,2; 121,3; 128,4; 128,5; 157,2; 161,2; 161,6; 163,8; 165,2; 181,7

6.3 -Fracionamento do Extrato EtOH da Inflorescência de *Baccharis platypoda* DC.

O extrato bruto etanólico da inflorescência de *Baccharis platypoda* DC foi submetido a sucessivas cromatografias em coluna de sílica gel, conforme mostra o Esquema II. O sistema de eluição utilizado foi hexano-AcOEt-MeOH no modo de gradiente de polaridade crescente. As frações obtidas foram reunidas conforme suas similaridades na CCDA reveladas em cuba de iodo e cloreto férrico e anizaldeído-sulfúrico. Este procedimento resultou no isolamento e identificação dos quais flavonoides conforme que serão citados a seguir:



ESQUEMA - II: Fluxograma de Isolamento dos Constituintes do Extrato EtOH da Inflorescência de *B. platypoda* DC.

Naringenina (12)

Obtido diretamente da fração 4-5 da Coluna A e da Fração 1-4 da Coluna B. Os dados espectroscópicos são idênticos aos descritos no item 6.1.

Taxifolina-3'-Acetil (17)

Purificado por recristalização da fração 15-18 da coluna C em hexano/acetona, e diretamente da fração 8-10 da Coluna D, na forma de cristais amarelos.

P. F. : 137-139 °C.

I. V. ^{KBr} λ_{\max} cm^{-1} : 3342, 3082, 2938, 1746, 1642, 1590, 1534, 1472.

EM (70 eV) m/z (%): M^+ 346 (25), 331 (10), 304 (45), 302 (50), 286 (40), 153 (100), 123 (50), 69 (25).

NMR ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ : 5,35 d ($J=11,7$ Hz), 5,82 d ($J=11,7$ Hz), 6,00 dl, 6,88 sl (2H), 7,058 sl, 11,57 s.

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 20,28; 73,08; 81,93; 96,31; 97,39; 101,95; 115,40; 115,93; 120,57; 128,22; 145,98; 147,01; 163,79; 165,13; 168,18; 169,55; 193,01.

Eriodictiol (18)

Obtido das frações 12-14 da coluna C e da frações 11-12 e 13 da coluna D, em mistura com aromadendrina e contaminado com taxifolina.

NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2,70 (1H, dd, $J=17,1$ e $3,1$ Hz, H-3), 3,14 (1H, dd, $J=17,1$ e $12,7$ Hz, H-3), 5,39 (1H, dd, $J=12,7$ e $3,1$ Hz, H-2), 5,96 (1H, $J=2,05$ Hz, H-8), 6,00 (1H, d, $J=2,05$ Hz, H-6), 6,87 (1H, d, $J=1,6$ Hz, H-2'), 6,89 (1H, dd, $J=8,5$ e $1,6$ Hz, H-6'), 7,43 (1H, d, $J=8,5$ Hz, H-5'), 11,72 (1H, s, OH-quelado).

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 43,47; 79,88; 95,79; 95,97; 101,06; 114,64; 115,45; 119,17; 129,20; 145,66; 146,31; 164,90; 167,29; 167,76; 197,15.

Aromadendrina (19)

Obtido das frações 12-14 da coluna C e da frações 11-12 e 13 da coluna D, em mistura com eriodictiol e contaminado com taxifolina.

NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 4,66 (1H, d, $J=11,6$ Hz, H-2), 5,09 (1H, d, $J=11,6$ Hz, H-3), 6,87 (1H, d, $J=8,5$ Hz, H-6',2'), 7,94 (1H, d, $J=8,5$ Hz, H-3',5'), 12,17 (1H, s, OH-quelado).

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 73,03; 84,27; 96,72; 97,00; 103,20; 115,95; 129,77; 130,23; 158,75; 164,00; 165,02; 168,75; 198,11.

Taxifolina (16)

Obtido diretamente da fração 15-20 da coluna D, na forma de cristais amarelos.

P. F.: 154-156 °C.

I. V. $^{\text{KBr}}$ λ_{max} : 3524, 3424, 1638, 1526, 1468, 1372, 1270, 1166, 1076, 948.

EM (70 eV) m/z (%): M^+ 304 (22), 275 (34), 153 (100), 123 (85), 69 (40).

NMR ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 4,62 (1H, d, $J=11,4$ Hz, H-3), 5,02 (1H, d, $J=11,4$ Hz, H-2), 5,95 (1H, d, $J=1,8$ Hz, H-8), 5,99 (1H, d, $J=1,8$ Hz, H-6), 6,85 (1H, dd, $J=8,2$ e 1,9 Hz, H-6'), 6,95 (1H, d, $J=8,2$ Hz, H-5'), 7,08 (1H, d, $J=1,9$ Hz, H-2').

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ : 73,40; 84,74; 96,33; 97,36; 101,76; 116,10; 121,12; 129,99; 146,02; 146,83; 164,37; 165,21; 168,18; 198,39.

7-Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos extratos foram obtidas através do teste de difusão. Para os compostos isolados foram determinadas as concentrações inibitória mínima e concentração bactericida mínima.

Bactérias

As seguintes cepas de bactérias foram usadas: *Bacillus cereus* MIP 96016, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and *Staphylococcus saprophyticus* MIP 97018 (MIP, Departamento of Microbiologia e Parasitologia). Para o crescimento bacteriano foi utilizado agar Mueller-Hinton. Todas a culturas de bactérias foram uncubadas sob condições aeróbicas.

Teste de Difusão em Agar

Culturas de bactérias foram diluídas a uma concentração final de aproximadamente 10^6 CFU ml^{-1} . A suspensão bacteriana foi inoculada na superfície do meio Agar Mueller-Hinton em placas de Petry. Em cada placa foram feitos cinco cavidades de 7 mm diametro no meio de agar. Estas cavidades foram preenchidas com 50 μL de cada um dos extratos (3mg) ou frações (1mg) dissolvidos em NH_4OH 0.1 N. As placas foram incubadas at 36°C durante 20 h. O resultado ér considerado positivo quando 9 mm ou mais de diâmetro de inibição do crescimento bacteriano é observado⁷¹. Os resultados são expresso da seguinte forma: 0 (inativo) quando não há inibição ou halo de inibição menor que 9 mm; 1 (parcialmente ativo) quando a zona de inibição está

entre 9 e 12 mm; 2 (ativo) quando a zona de inibição estiver entre 13 e 18 mm; 3 (muito ativo) quando a zona de inibição for superior a 18 mm ⁷².

Teste de Diluição

Alguns compostos isolados foram testados para 5 espécies de bactérias através da determinação das concentrações inibitórias mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

As suspensões bacterianas (10^6 CFU mL^{-1}) em Mueller-Hinton (0,5 μL) foram inoculadas em tubos contendo 500 μL de diluições serial dos compostos a serem testados previamente dissolvidos em NH_4OH 0.1 N e diluídos (0.15 to 2.5 mg mL^{-1}) no mesmo caldo de cultura. Os tubos foram inoculados a 36°C por 20 h. Os valores de CIM, expressos em mg mL^{-1} , foram definidos como a menor concentração de cada substância que foi capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano. Os tubos que não apresentaram crescimento bacteriano aparente, foram inoculados em placa (Mueller-Hinton agar) para a determinação das CBMs que representa a menor concentração do composto que reduziu em 99% o número de colônias ⁷¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho, em seu primeiro plano, envolveu o estudo fitoquímico sistemático de três espécies do Gênero *Baccharis*: *Baccharis pseudotenuifolia* DC, *Baccharis ligustrina* DC e *Baccharis platypoda* DC. Num segundo plano, em colaboração com outros Departamentos da UFSC, descreve-se uma avaliação prévia do potencial terapêutico das espécies em estudo através de "screening" para atividade antimicrobiana, antiparasitária e antiinflamatória e analgésica.

1 - ESTUDO FITOQUÍMICO

1.1 - EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *B. ligustrina* DC

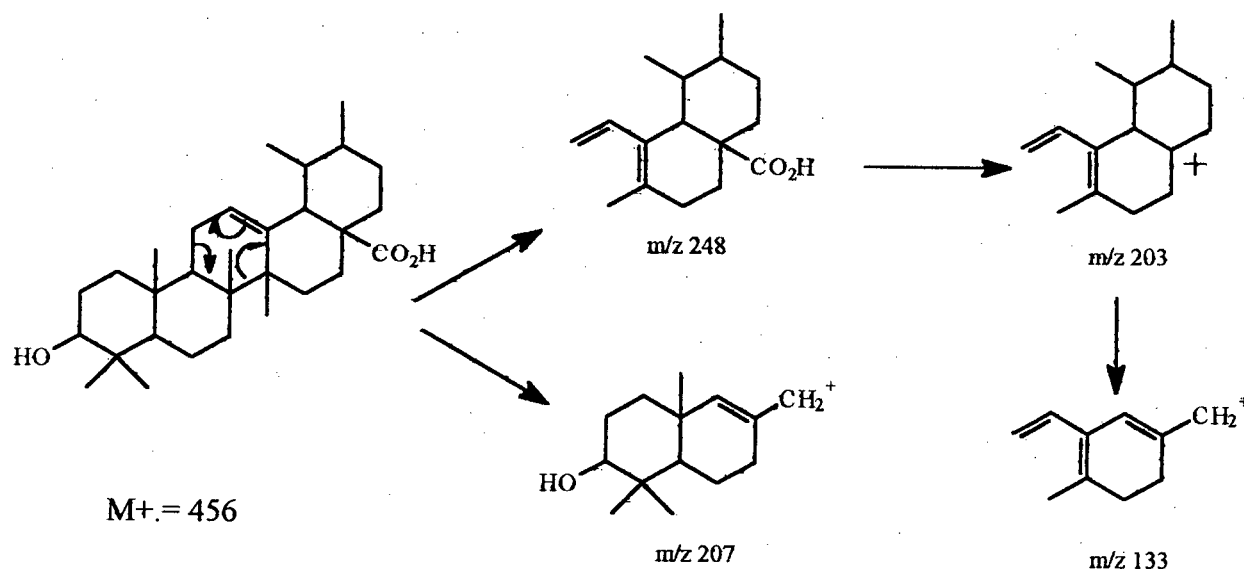
O fracionamento cromatográfico do Extrato Bruto das folhas de *B. ligustrina* DC resultou no isolamento e identificação dois triterpenos, uma flavona e uma flavanona identificada como sendo naringenina cuja identificação está discutida no item 1.3.

1.1.1 - Identificação do Ácido Ursólico (1)

O espectro de IV (pg. 61) apresenta um perfil característico de triterpenos com intensa absorção em $2926-2854\text{ cm}^{-1}$ para o estiramento C-H que aliada as absorções em 3442 , 1690 e 1638 cm^{-1} referentes aos grupos OH, COOH e C=C respectivamente, são indicativos de um triterpeno ácido.

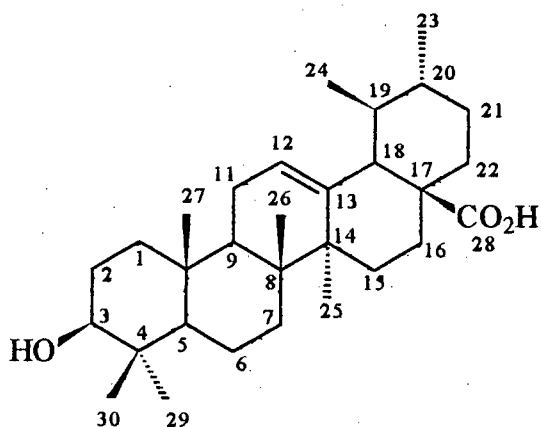
O espectro de massas (pg. 62) mostra o íon molecular M^+ em 456 compatível com a fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_3$, sendo 30 u.m.a. acima de 3-hidroxitriterpenos pentacíclicos, o que indica a presença da função ácido carboxílico. Apresenta um padrão de fragmentação característico tendo como principal fragmento o íon a m/z 248 resultante

de uma quebra retro Diels-Alder o que localiza a ligação dupla nos carbonos C12-C13 no anel C. Os íons m/z 203 e m/z 133 vem da fragmentação do íon base m/z 248 por perda de CO_2H e quebra do anel "E" respectivamente. O Esquema I mostramos uma proposta de fragmentação onde se observam os principais fragmentos.

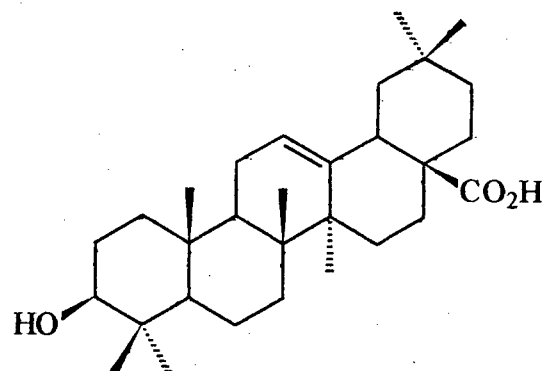


ESQUEMA - I: Proposta de fragmentação para o ácido ursólico (1)

Os Espectros de NMR ^1H (pg. 63) e ^{13}C (pg. 64-65) são típicos de triterpenos onde pode-se observar nitidamente cinco metilas singletes e duas metilas dupletes confirmadas pelo espectro de Carbono-13/APT o que sugere um esqueleto ursano. O sinal em 78,56 ppm correlacionado ao triplete largo em 3,19 ppm indicam a presença de uma hidroxila em C-3, o sinal em 137,94 ppm (C) juntamente com o sinal em 125,25 ppm (CH) correlacionado ao sinal em 5,24 ppm é indicam a presença de uma dupla ligação $\text{C}=\text{C}$ trissubstituída e o sinal em 180,43 é ppm referente a função ácido carboxílico. Finalmente a proposta estrutural foi confirmada como sendo ácido ursólico por comparação dos dados espectroscopicos com os da literatura e por comparação dos R_f da CCDA em 3 sistema de eluentes com um padrão de ácido ursólico (1).



ácido ursólico (1)



ácido oleanólico (2)

1.1.2 - Identificação do Ácido Oleanólico (2)

Os espectros de IV (pg. 66), Massas (pg. 67), NMR ^1H (pg. 68) e ^{13}C (pg. 69) apresentam um padrão típico de triterpenos sendo muito semelhante aos do ácido ursólico descrito no item 1.1.1.

As diferenças básicas que sugerem no esqueleto oleanano ficam por conta da observação no espectro de próton da presença de sete singletes com integração para três hidrogênios cada, correspondente as sete metilas ligadas carbonos quaternários. Estes dados são confirmados no espectro de Carbono-13/APT (pg. 70).

A outra observação que reforça a hipótese do esqueleto oleanano é a presença do duplo duplete no espectro RMN ^1H , centrado em 2,83 ppm com constantes de acoplamento Hax-Hax (13,95 Hz) e Hax-Heq (3,97 Hz) que é atribuído ao hidrogênio ligado ao carbono C-18, acoplado ao 19-CH₂. Este argumento é fortalecido ao se comparar as diferenças nos deslocamentos químicos principalmente nos anéis "D" e "E" como mostra a Tabela II.

Finalmente a proposta estrutural foi confirmada como sendo ácido oleanólico por comparação dos dados espectroscópicos com os da literatura e por comparação dos R_f da ccf com um padrão de ácido oleanólico

TABELA - II: Atribuição dos δ de RMN $^{13}\text{C}/(\text{DEPT})$ para o Ác. Ursólico (1), Ác. Oleanólico (2), Baurenol. (10) e β -Amirina (11).

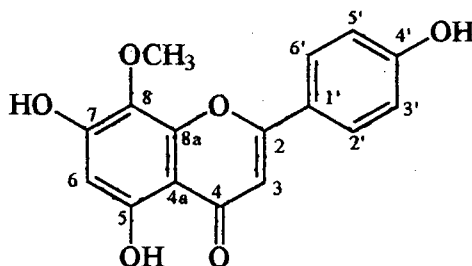
	Ácido Ursólico	Ácido Oleanólico	Baurenol	β -Amirina
C-1	38,42	38,36	36,20	39,82
C-2	26,48	27,14	29,22	
C-3	78,51	79,02	79,24	79,69
C-4	38,42	38,23	38,87	39,83
C-5	55,00	55,17	50,42	56,75
C-6	18,04	18,27	24,15	19,49
C-7	32,78	32,58	116,44	31,60
C-8	39,19	39,23	145,33	42,89
C-9	47,25	47,60	48,23	47,61
C-10	36,64	37,05	36,85	38,11
C-11	22,99	22,89	16,81	24,05
C-12	125,24	122,60	32,44	129,60
C-13	137,92	143,57	37,70	145,17
C-14	41,79	41,57	41,23	42,71
C-15	27,71	27,65	28,87	26,75
C-16	23,94	23,37	31,53	27,86
C-17	47,92	46,50	32,44	30,76
C-18	52,57	40,95	54,90	48,23
C-19	38,82	45,84	35,34	46,90
C-20	38,65	30,65	37,99	30,76
C-21	30,41	15,53	29,22	34,89
C-22	36,57	32,41	36,88	38,16
C-23	27,71	28,07	14,65	28,83
C-24	15,09	15,52	27,54	15,89
C-25	15,29	15,30	12,98	16,31
C-26	16,56	17,11	23,65	17,71
C-27	23,21	25,91	22,66	26,40
C-28	180,37	183,19	32,04	28,74
C-29	16,69	33,05	25,64	33,57
C-30	20,81	23,55	22,55	33,80

1.1.3- Identificação de 4'-Hidroxiwogonin (4)

O espectro de IV (pg. 71) apresenta absorções devido ao estiramento O-H na região de 3336 cm^{-1} , H-C aromático em 3092 cm^{-1} , carbonila conjugada em 1654 cm^{-1} e demais absorções para C=C aromático na região de $1610\text{-}1558\text{ cm}^{-1}$. O espectro de massas (pg. 71) mostra o íon molecular a m/z 300 como principal fragmento.

No espectro de RMN de Carbono-13 (pg. 74-75) são observados 15 sinais para carbono sp^2 , sendo uma carbonila conjugada em $192,84\text{ ppm}$, seis carbonos aromáticos oxigenados ($138,35$ a $164,38\text{ ppm}$) e um sinal para metoxila sugerindo uma flavona trihidroxilada e monometoxilada. A presença de um carbono oxigenado em campo mais alto $138,35\text{ ppm}$ indica que os carbonos vizinhos também são oxigenados.

No espectro de RMN Proton (pg. 73), são observados um par de dupletos (2H cada) centrados em $7,25$ e $7,96\text{ ppm}$ com constantes de acoplamento para prótons orto relacionados, sugerindo um anel aromático p-disubstituído que pode ser atribuído ao anel B. Dois singletes em $6,95$ e $6,93\text{ ppm}$, e um hidrogênio quelado em $13,95\text{ ppm}$ concordam com a estrutura de uma trihidroxi-metoxiflavona. A localização do grupo metoxila foi feita com base nos dados de DIFNOE que ao irradiar o próton $6,93\text{ ppm}$ destaca o próton quelado localizando este hidrogênio em C-6. Ao irradiar a metoxila $3,99\text{ ppm}$ e o próton $6,95\text{ ppm}$ obteve-se resultado negativo. Estes dados localizam a metoxila em C-8. As atribuições dos valores dos deslocamentos químicos para o carbono apresentados foi feita com base nas correlações heteronucleares HETCOR (pg. 76) a pequena e longa distância (Hetcor Long Range (pg. 77)) conforme resumido na tabela-III. Deste modo o composto foi identificado como 5,7,4'-trihidroxi-8-metoxiflavona (4).



5,7,4'-trihidroxi-8-metoxiflavona (4)

TABELA -III: Atribuição dos deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C através das correlações heteronucleares HETCOR e HETCOR Long Rang para flavona (4) .

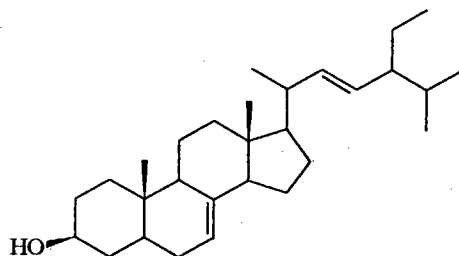
	RMN ^{13}C /APT	NMR ^1H /HETCOR	LR		DIFNOE
			^3J	^2J	
C-2	164.2		$^3\text{J}=7.96$	$^2\text{J}=6.95$	
C-3	103.2	6.95 s			negativo
C-4	182.9				
C-5	153.5		$^3\text{J}=13.95$	$^2\text{J}=6.93$	
C-6	95.0	6.93 s			13,95
C-7	158.6			$^2\text{J}=6.93$ $^2\text{J}=6.95$	
C-8	132.4		$^3\text{J}=6.95$ $^3\text{J}=6.93$		
C-9	154.0				
C-10	105.1		$^3\text{J}=13.95$ $^3\text{J}=6.93$ $^3\text{J}=6.95$		
C-1'	122.1			$^2\text{J}=7.25$	
C-2'-C-6'	128.7	7.96 d		$^2\text{J}=7.25$	
C-3'-C-5'	116.6				
C-4'	162.5		$^3\text{J}=7.96$		
OMe	60.1	3.99			negativo

1.2 - EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE *B. pseudotenuifolia* DC

O fracionamento cromatográfico do extrato bruto das folhas de *B. pseudotenuifolia* DC resultou no isolamento e identificação de ácido oleanólico, spinasterol, quercetina e uma mistura contendo quercetina -3-O-Ramnosideo e quercetina-3-O-Glucosideo.

1.2.1 - Identificação do Spinasterol (5)

O spinasterol foi identificado com base na comparação dos dados espectroscópicos de IV (pg. 78), Massas (pg. 79), NMR ^1H (pg. 80) e ^{13}C (pg. 81) que apresentaram perfis característicos de esteróis, com os dados da literatura. A proposta de um esterol foi fundamentada nos deslocamentos químicos de NMR ^{13}C para 29 carbonos sendo duas metilas quaternárias, três metilas dupletes (terciária) e uma metila triplete (secundária). Dos quatro carbonos sp^2 , três são CH o que indica a presença de uma ligação dupla trissubstituída e uma trans-disubstituída o que se confirma pela presença do par de duploduplete e do singlete largo na região de 4,97-5,15 ppm. Também o OH em C-3 do esterol fica caracterizado pela multiplicidade do sinal em 3,60 ppm.

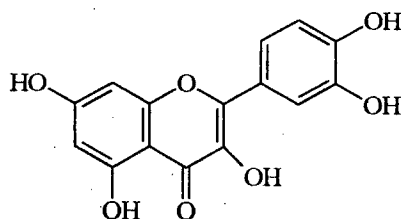


α -spinasterol (5)

1.2.2 - Identificação da Quercetina (6)

A quercetina foi primeiramente identificada por CCDA através de seu R_f comparado a um padrão de quercetina. A confirmação veio da comparação dos deslocamentos químicos de carbono-13 (Tabela-IV, pg. 48) com os dados da literatura e da análise do espectro de próton (pg. 82). Um par de dupletes centrados em 6,27 e 6,53 ppm com constantes de acoplamento para prótons meta correlacionados ($J=2,0$ Hz) e sinal para OH quelado em 12,19 ppm definem o padrão de substituição 5,7-dihidroxi do anel A. Um sistema ABX identificado pelos sinais 7,00 d ($J=8,5$ Hz), 7,71 dd ($J=2,0$ e 8,5 Hz), s. 7,83 d ($J=2,0$ Hz) definem a substituição 3',4'-dihidroxi do anel B. Assim foi identificada a

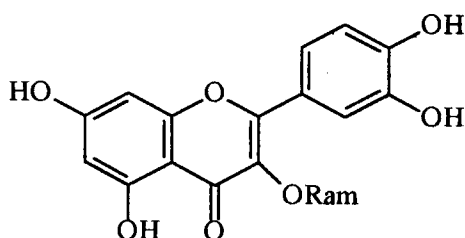
3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavona (ou 5,7,3',4'-tetrahidroxiflavanol), conhecido como quercetina (6).



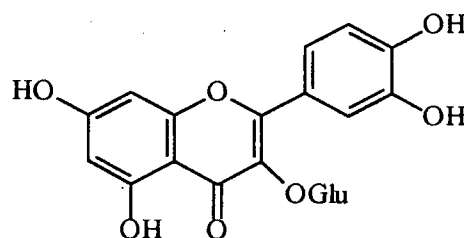
quercetina (6)

1.2.3 - Identificação da mistura Quercetina-3-O-Rhamnoseo (7) + Quercetina-3-O-Glucosideo (8)

Os glicosídeos quercetina-3-O-rhamnoseo e quercetina-3-O-glucosideo, foram identificados em mistura através das análises espectroscópicas e comparação com os dados da literatura. Nos espectros de próton (pg. 83-84) e carbono-13 (pg. 85-87) pode ser observado uma série de sinais duplicados que estão de acordo com a glicona quercetina. Na região de açúcares pode ser identificado a presença de dois carbonos anoméricos em 102,5 e 105,6 ppm que estão relacionados aos prótons anoméricos em 5,22 e 5,51. A presença de uma metila duplete em 0,91 ppm ($J=5,59$) e 17,70 ppm para o carbono sugere ser raminose, que é confirmada ao se comparar os deslocamentos químicos com os dados da literatura⁷⁴. O outro açúcar foi identificado como glucose também por comparação com os dados da literatura.



quercetina-3-O-rhamnoseo (7)



quercetina-3-O-glucosideo (8)

1.3 - EXTRATOS BRUTOS DE *BACCHARIS. PLATYPODA* DC

De *B. platypoda* DC, foram coletadas separadamente a casca, folhas e inflorescência, obtendo-se os respectivos extratos. O fracionamento destes extratos mostrou diferentes composições para cada órgão da planta. No presente trabalho são analisados os extratos da casca e da inflorescência.

O fracionamento cromatográfico em colunas de sílica gel dos extratos da inflorescência de *B. platypoda* DC resultou no isolamento e identificação do diterpeno ácido kaurenóico, dos triterpenos baurenol e β -amirina e dos flavonoides naringenina, naringenina-7-metoxi, taxifolina, taxifolina-3-acetil, eriodictiol e aromadendrina.

1.3.1- Identificação do Baurenol (10)

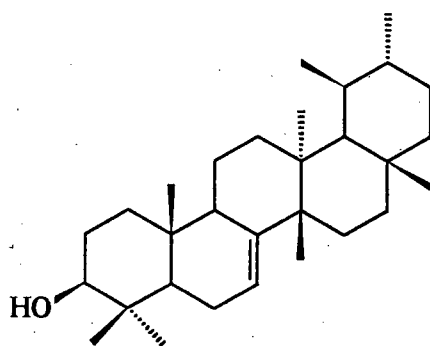
A observação conjunta dos espectros das pg. 91-97 levou a trabalhar com a hipótese de um triterpeno. O espectro de massas (pg. 92) mostra o íon molecular a m/z 426 fórmula molecular $C_{30}H_{50}$ o que juntamente com os dados dos espectros de RMN $^{13}C/DEPT$ (pg. 95-97) pode-se ampliar para a fórmula $(CH_3)_9 (CH_2)_6 (CH)_5 C_5 (C=CH) OH$ para um triterpeno.

O espectro de IV (pg. 91) mostra absorções para grupo OH de álcool em 3384 cm^{-1} e uma intensa banda de absorção de CH alifático em $2932-2864\text{ cm}^{-1}$.

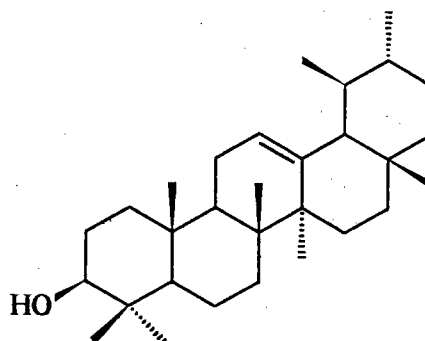
O espectro de próton (pg. 93) apresenta seis metilas singleto em 0,74; 0,85; 0,94; 0,96; 0,99; 1,03 ppm e duas metilas duplete em 0,90 e 1,05 ppm confirmadas nos espectros de RMN $^{13}C/DEPT$ (pg. 95-97) sugerindo um esqueleto ursono. Um duplo duplete centrado em 3,27 com constantes de acoplamento axial-equatorial = 4,1 Hz e axial-axial = 11,0 Hz são atribuídos ao próton em C-3 axialmente orientado o que implica num grupo 3 β -OH. A dupla trissubstituída é deduzida pelo sinal em 5,42 ppm que está correlacionado ao carbono em 117,13 conforme mostra o espectro HETCOR (pg. 98-99).

A localização de ligação dupla em C7-C8 foi feita com base nas correlações heteronucleares a uma ligação (HETCOR pg. 98-99) e a longa distância (HETCOR Long

Rang pg. 100-101) Desta forma o triterpeno foi identificado como sendo baur-7-en-3 β -ol. Na Tabela-II (pg. 35) são feitas as atribuições para os carbonos com base nas correlações heteronucleares e comparação com dados da literatura⁷³.



baurenol (10)



α-amirina (11)

1.3.2 - Identificação da α-amirina (11)

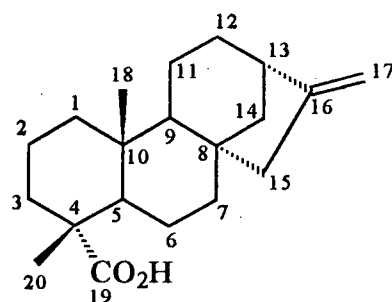
Nos espectros de RMN ^1H (pg. 102) e ^{13}C (pg. 103-104) observa-se o perfil característico de triterpenos. A presença de seis metilas singlete e duas metilas duplete no espectro de próton e confirmada no carbono-13 sugerem um esqueleto ursano contendo uma ligação dupla trissubstituída definida pelos sinais de próton em 5,24 ppm H, t1 e carbono em 123,64 ppm CH e 145,17 ppm C. O duplo duplete centrado em 3,13 ppm para um próton carbinólico correlacionado ao CH em 79,69 indicam a presença do 3 β -OH. A comparação dos deslocamentos químicos de carbono-13 com dados da literatura⁷³ permitiram identificar o triterpeno β-amirina cujas atribuições estão mostradas na Tabela-II (pg 35).

1.3.1.3 - Identificação do ácido kaurenóico (9)

O espectro de IV (pg. 88) apresenta uma larga absorção entre 3500-2500 cm^{-1} devido a hidroxila de ácido carboxílico com a carbonila vibrando em 1692 cm^{-1} . Em 3066

cm^{-1} observa-se o estiramento $=\text{C}-\text{H}$ de dupla e em $2928-2850 \text{ cm}^{-1}$ o estiramento devido as ligações $\text{C}-\text{H}$ alifática que comparada a intensidade da carbonila supõe-se e ser um diterpeno. Esta hipótese que é suportada pela presença de 20 sinais no espectro de Carbono-13 (pg. 90) que confirma a carbonila de ácido em $184,57 \text{ ppm}$ e de uma ligação dupla exocíclica identificada devido as absorções em $155,84 \text{ (C)}$ e em $102,98 \text{ ppm (CH}_2\text{)}$. Estas e as demais absorções de carbono-13 são comparáveis aos dados da literatura para o ácido kaur-16-em-19-óico.

O espectro de RMN ^1H (pg. 89) apresenta um perfil de absorções bem característico de diterpeno. O par de singletes largos em $4,73$ e $4,79 \text{ ppm}$ confirmam a presença um grupo metileno exocíclico



ácido kaurenóico (9)

1.3.4 - Identificação da Naringenina (12)

O espectro de IV (pg. 116) mostra absorção para estiramento $\text{O}-\text{H}$ na região de 3300 cm^{-1} , carbonila conjugada em 1632 cm^{-1} e demais bandas de absorção de anel aromático na região de $1604-1518 \text{ cm}^{-1}$, sugerindo um padrão de absorção de flavonoides.

Na região de prótons alifáticos do espectro de RMN ^1H (pg. 118-120), pode ser identificado um sistema de spin ABX constituído por três duplos dupletes centrados em $5,36 \text{ ppm}$ ($J=12,9$ e $2,9 \text{ Hz}$), $3,10 \text{ ppm}$ ($J=17,0$ e $12,9 \text{ Hz}$) e $2,53 \text{ ppm}$ ($J=17,0$ e $2,9 \text{ Hz}$) indicando a presença da unidade estrutural $\text{O}-\text{CH}-\text{CH}_2$ o que caracteriza o esqueleto flavanona. O anel B p-substituído foi deduzido pelo par de dupletes centrados em $6,90$ e

7,33 (J=8,5 Hz) com integração para dois hidrogênios cada, referente a prótons orto-correlacionados. A presença de OH quelado em 12,09 ppm juntamente com observação de um singleto largo em 5,98 ppm com integração para dois prótons nos permite atribuir aos prótons em C6 e C8, que na verdade deveria ser um par de dupletes meta correlacionados.

No espectro de RMN ^{13}C (pg. 121), espectro DEPT (pg. 122) e espectro de correlação heteronuclear (C-H) HETCOR (pg. 123) pode-se confirmar a estrutura sugerida pelo espectro de RMN de Proton através das seguintes observações. Observam-se um CH_2 em 43,33 ppm que está correlacionado com os prótons em 3,10 e 2,53 ppm. Um carbono oxigenado em 79,35 ppm (CH) que está correlacionado ao hidrogênio carbinólico em 3,36 ppm. Dois CH em 95,61 e 96,67 ppm correlacionados aos dois prótons na forma de singleto largo em 5,98 ppm, dois grupos CH em 115,85 ppm e dois CH em 128,24 ppm correlacionados aos prótons em 6,90 e 7,33 ppm respectivamente. Também são observados os sinais para carbonila em 196,31 ppm, quatro carbonos oxigenados na região de 157,95-166,74 ppm e os demais sinais cujas atribuições estão na Tabela-IV. A fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ que pode ser deduzida do espectro de Carbono-13/DEPT é confirmada pelo espectro de Massas (pg. 117) que apresenta o íon molecular a 272 m/z. Após esta análise este composto foi identificado como sendo 5,7,4"-trihidroxiflavanona (naringenina) (12).

1.3.5 - Identificação da Naringenina-7-metoxi (13)

A naringenina-7-metoxi foi identificada com base nos dados dos espectros de próton, Carbono-13/APT e DIFNOE.

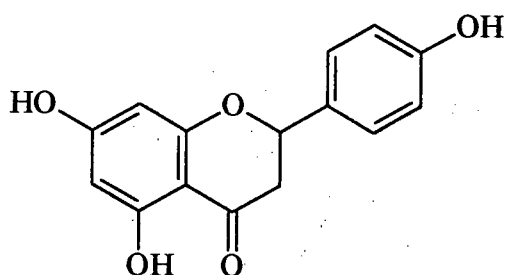
O espectro de RMN ^1H (pg. 105-106) apresenta um perfil característico de uma flavona metoxilada. O padrão de substituição 5,7,4' é deduzido pela presença dos seguintes sinais; um par de dupletes com integração para dois hidrogênios cada centrados em 7,24 e 7,54 ppm com constante de acoplamento de 8,5 Hz, atribuídos aos hidrogênios do anel "B" $\text{H}_2'\text{-H}_6'$ e $\text{H}_3'\text{-H}_5'$ respectivamente. Um par de dupletes centrados em 6,23 e 6,33 ppm com constantes de acoplamento para prótons meta relacionados (J=2 Hz) juntamente com a

presença da hidroxila quelada em 12,09 ppm definem o padrão de substituição C-5, C-7 do anel "A".

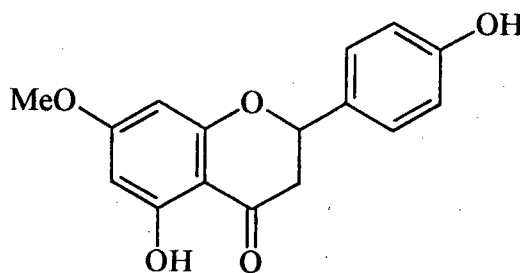
Também pode ser observado o sistema de spin ABX que caracteriza o esqueleto flavanona; H2 em 5,48 ppm ($J=12,7$ e $3,0$ Hz), H3_{eq} em 3,29 ($J=17,1$ e $13,0$ Hz) e H3_{ax} em 2,89 ppm ($J=17,1$ e $3,0$ Hz)

As absorções observadas no espectro de carbono-13 (pg. 109-110) confirmam a estruturas de uma 5,7,4'-(dihidroxi-monometoxi)flavanona cujas atribuições são apresentadas na Tabela-IV (pg 48).

A correta localização do grupo metoxila foi possível de ser realizada através do experimento de DIFNOE (pg. 106-107). Irradiando a metila em 3,89 ppm observa-se destacar no espectro apenas um par de dupletes centrados em 6,23 e 6,33 ppm de $J=2$ Hz. Por outro lado irradiando em 6,23 (H-6) e 6,33 (H-8) observa-se apenas o sinal devido a metoxila em 3,89 ppm. Assim este flavonoide foi identificado com sendo 5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavanona (naringenina-7-metoxi).



naringenina (12)



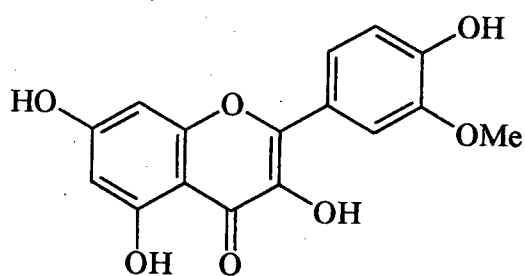
naringenina-7-metoxi (13)

1.3.6 - Identificação da Quercetina 3'-metoxi (14)

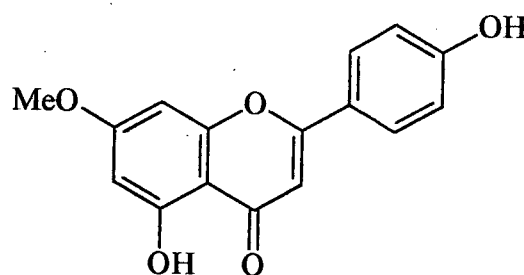
O espectro de RMN ^1H (pg. 124-125) mostra um hidrogênio quelado em 12,09 ppm e um para de dupletes centrados em 6,28 ppm ($J=2,1$ Hz, H6) e 6,56 ppm ($J=2,1$ Hz, H8)

para o anel A. O anel B 3'-4'-substituído é deduzido pelos sinais em 7,00 ppm (d, $J=8,5$ Hz, H5'), 7,81 ppm (dd, $J=8,5$ e 2,1 Hz, H6') e 7,90 ppm (d, $J=8,5$ Hz, H2') e uma metoxila em 3,94 ppm, identificando um flavanol 5,6,3',4'-tetrasubstituído.

A posição da metoxila em C-3' foi feita com as informações obtidas dos experimentos de DIFNOE (pg. 126). Irradiando a metila em 3,94, pode-se destacar no espectro apenas o sinal referente ao H2' em 7,90 ppm. Assim, o composto foi identificado como 5,7,4'-trihidroxi-3'-metoxiflavanol (quercetina-3'-metoxi), (14).



quercetina-3'-metoxi (14)



apigenina-7-metoxi (15)

1.3.7 - Identificação da Apigenina-7-metoxi (15)

O espectro de IV (pg. 111) mostra absorções características para estiramento de OH em 3266 cm^{-1} , C-H alifático em $2920-2850\text{ cm}^{-1}$, carbonila conjugada em 1666 cm^{-1} e anel aromático na região $1606-1502\text{ cm}^{-1}$ sugerindo uma estrutura flavonoídica.

No espectro de RMN ^1H (pg. 112-113) pode-se observar o padrão de substituição 5,7,4' de uma flavona, caracterizado pelos sinais: Um singlete largo em 13,68 ppm para o OH quelado e um par de dupletes centrados em 6,64 e 6,73 ppm com constantes de acoplamento para prótons meta correlacionados ($J=2,0$ Hz) atribuídos ao anel "A". um par de duplo dupletes centrados em 7,28 e 7,97 ppm com constante de acoplamento para

prótons orto correlacionados ($J=8,5$ Hz) atribuídos ao anel "B". O próton H-3 aparece como um singlete em 6,96ppm.

A metoxila que aparece em 3,79 ppm é localizada no carbono C-7 com base no experimento DIFNOE (pg. 114-115). A irradiação da metila em 3,79 ppm resulta na observação de um par de dupletes centrados em 6,64 (H-6) e 6,73 (H-8) ppm. Assim fica identificado 5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavona (Apigenina-7-metoxi (15)).

1.3.8 - Identificação da Taxifolina (16)

O espectro de IV (pg. 128) mostra absorções para OH em 3524 e 3424, 1638 cm^{-1} para carbonila conjugada e o padrão aromático entre 1526-1468 cm^{-1} . O espectro de Massas (pg. 129) mostra a presença do o íon molecular a m/z 302, para a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_7$ de um flavanonol.

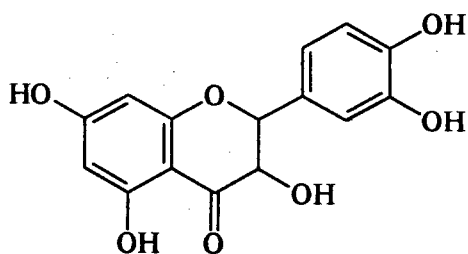
No espectro de RMN ^1H pode-se observar um sistema de spin AB centrados em 4,62 ppm ($J=11,4$ Hz, H3) e 5,02 ppm ($J=11,4$ Hz, H2) caracterizando o esqueleto flavanonol. O singlete em 11,71 ppm corresponde a para uma hidroxila quelada e um par de dupletes centrados em 5,95 ppm e 5,99 ppm com constante de acoplamento para prótons meta correlacionados são atribuídos ao anel "A". As absorções entre 6,84-7,08 sugerem o padrão do anel "B".

Os dados obtidos do espectro de RMN $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (pg. 132-133) confirmam as deduções do espectro de próton. A carbonila em 198,39 ppm e os carbonos carbinólicos em 73,40 ppm (CH-3) e 84,74 ppm (CH-2) são atribuídos ao anel "C" de um flavanonol. O anel "A" 5,7-dihidroxi pode ser confirmado pelos carbonos hidrogenados em 96,33 ppm (CH) e 97,36 ppm (CH) e pelos oxigenados em 146,02; 146,83; 164,37; 165,21 e 168,18 ppm. A Tabela-IV mostra as atribuições dos deslocamentos químicos do espectro de carbono-13, permitindo a identificação de 5,7,3',4'-tetrahidroxiflavanonol (Taxifolina, (16)).

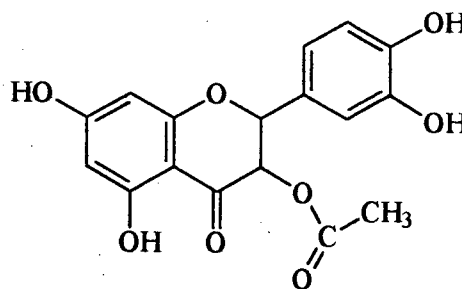
1.3.9 - Identificação da Taxifolina-3'-acetil (17)

Os espectros de IV (pg. 134), RMN ^1H (pg. 136-137) e RMN ^{13}C (138-139) mostram o mesmo padrão de absorção da taxifolina acima discutida onde se pode ainda observar um singlete adicional em 1,97 ppm com integração para três hidrogênios que é atribuído a metila de um grupamento acetila. O grupo acetila é confirmado no espectro IV pela absorção em 1746 cm^{-1} para carbonila de éster e também no espectro de RMN ^{13}C (pg. 138-139) onde se observa uma carbonila adicional em 169,55 ppm típica de éster. No espectro de massas (pg. 135) o pico molecular a m/z 346, 42 u.m.a. a mais que a taxifolina também indicam a presença do grupo acetila.

A localização do grupo acetila em C-3 foi deduzida pela influência da proteção anisotrópica causada pela carbonila do grupo acetil sobre os carbonos C-2 protegido em 2,5 ppm, C-1' protegido em 1,7 ppm e C-4 protegido em 5,1 ppm.



taxifolina (16)



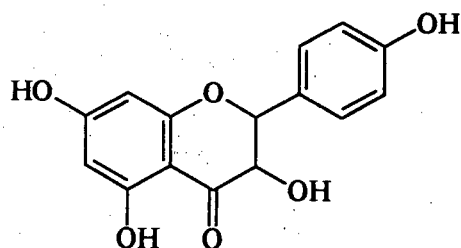
taxifolina-3'-acetil (17)

1.3.10 - Identificação da mistura Eriodictiol (18) + Aromadendrina (19)

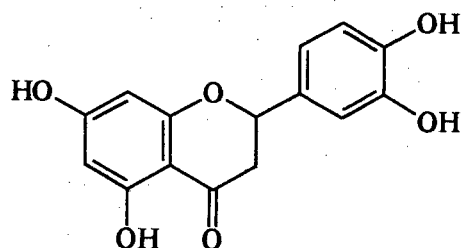
A identificação de eriodictiol e aromadendrina nesta fração impura foi feita das seguintes observações no espectro de RMN ^1H (pg. 140-141) e RMN ^{13}C (pg. 142-143): Observa-se um duplo duplete centrado em 2,40 ppm $\text{H}_{3\text{ax}}$ ($J=17,1$ e $3,1$ Hz), 3,14 ppm $\text{H}_{3\text{eq}}$ ($J=17,1$ e $13,1$ Hz) e 5,39 ppm H_2 ($J=13,1$ e $3,1$ ppm), que sugerem a presença de uma

flavanona. Os dois pares de dupletos centrados em 4,62 ppm ($J=11,4$ Hz, H3) e 5,02 ppm ($J=11,4$ Hz, H4) idêntico ao da taxifolina acima discutida e 4,66 ppm ($J=11,6$ Hz, H3) e 5,05 ppm ($J=11,4$ Hz, H4) sugerem a presença de duas flavanonas.

A cromatografia em camada delgada revelada com cloreto férrico mostrou três manchas com R_fs comparáveis aos padrões de taxifolina, aromadendrina e eriodictiol. Na Tabela - IV são feitas as atribuições dos deslocamentos químicos dos carbono-13 por comparação com os dados da literatura⁷⁴.



aromadendrina (19)



eriodictiol (18)

TABELA - IV: Atribuição dos δ (ppm) de RMN ^{13}C para os flavanóides isolados.

C	6	7	8	12	13	14	15	16	17	18	19
2	147,50	148,84	149,00	79,35	79,49		163,80	84,39	81,92	79,88	84,27
3	136,50	135,70	135,50	43,33	43,08		102,30	73,05	73,07	43,47	73,03
4	182,69	179,02	179,90	196,31	196,82		181,70	198,09	193,01	197,15	198,11
4a	104,00	105,00	105,00	102,84	103,33		103,60	101,43	101,95	101,06	103,20
5	157,50	162,89	162,63	164,67	164,44		161,20	164,87	165,13	167,29	165,02
6	99,09	99,47	99,70	96,69	95,22	99,12	98,60	95,99	97,38	95,97	97,00
7	164,93	164,94	165,27	166,70	168,59		165,20	167,79	168,18	167,76	168,75
8	94,39	94,45	94,62	95,61	94,22	94,52	93,90	95,96	96,30	95,79	95,79
8a	156,70	157,80	157,83	163,66	163,46		157,20	164,04	163,79	164,90	164,00
1'	123,70	122,49	122,61	130,65	129,39	128,22	121,30	129,89	128,22	129,2	129,77
2'	115,69	116,07	116,25	128,25	128,59	116,02	128,50	115,78	115,92	114,64	130,23
3'	145,77	145,14	145,78	115,86	116,24		116,20	145,66	145,98	145,66	115,95
4'	148,27	148,84	149,00	157,95	159,37		161,60	146,49	147,01	146,31	158,75
5'	116,15	115,02	115,71	115,86	116,24	116,12	116,00	115,69	115,40	115,45	115,69
6'	121,40	127,30	127,30	128,75	128,59	122,70	128,40	120,76	120,57	119,17	120,76

2 - AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

O "screening" de atividade biológica apresentou resultados potencialmente promissores para as atividades antimicrobiana contra várias bactérias, antiparazitária contra forma de cultura de *Trypanozoma cruzi* e analgésica e antiinflamatória nos modelos de dor induzida pelo ácido acético e edema de pata.

Os resultados do "screening" de atividade antimicrobiana contra as bactérias *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus saprophyticus*, mostrou, em geral, que a maior atividade está relacionada aos extratos mais polares (extrato etanólico). Das bactérias testadas, somente o *B. cereus* teve seu crescimento inibido nos extratos menos polares (extrato de clorofórmio), mostrando halos de inibição de 9 mm para, 12 mm para o extrato de CHCl_3 do caule de *B. platipoda* DC, e 14 mm para o extrato CHCl_3 das folhas de *B. pseudotenuifolia* DC Tabela-V.

TABELA - V: Teste de difusão em agar para atividade antibacteriana dos extratos de espécies de Baccharis. Concentração dos extratos 5 mg/50 μl . Os resultados são expressos em mm de halo de inibição do crescimento bacteriano.

Espécie	Extrato	<i>B. cereus</i> d (mm)	<i>E. coli</i> d(mm)	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. sapro- phyticus</i>	<i>S. aureus</i>
<i>B. platipoda</i> folhas	EtOH	17	12	11	17	20
	CHCl_3	09	NHI	NHI	NHI	NHI
<i>B. platipoda</i> inflorescência	EtOH	24	NHI	12	09	17
<i>B. platipoda</i> madeira	EtOH	20	NHI	13	20	18
	CHCl_3	12	NHI	NHI	NHI	NHI
<i>B. ligustrina</i> folhas	EtOH	09	14	16	23	24
	CHCl_3	NHI	NHI	NHI	NHI	NHI
<i>B. pseudotenuifolia</i> folhas	EtOH	26	10	12	23	22
	CHCl_3	14	NHI	NHI	NHI	NHI

NHI == não houve inibição

O Ensaio de atividade antiparazitária contra forma de cultura de *Tripanozoma cruzi* mostrou resultado significativo somente para folhas de *B. platypoda* DC. Ambos os extratos etanólico e clorofórmio apresentaram uma DL₅₀ de 10 µg/mL. Tabela-VI.

TABELA - VI : Ensaio de atividade antiparazitária dos extratos brutos de *B. pseudofenuifolia* e *B. platypode* contra forma de cultura de *Tripanosoma. Cruzi*.

Espécie	Extrato	DL ₅₀
<i>Baccharis pseudofenuifolia</i> folhas	EtOH	50
<i>Baccharis platypode</i> folhas	EtOH	10
<i>Baccharis platypode</i> folhas	CHCl ₃	10

Os ensaios de atividade antiinflamatória e analgésica estão em andamento e dispõem apenas dos resultados referente a *B. ligustrina*. O extrato bruto causou inibição na primeira e segunda fase da dor no modelo da formalina. Dos compostos isolados de *B. ligustrina* o melhor resultado foi observado com 4'-hidroxiwogonin que numa dose de 10 mg/kg (i.p.) causou uma inibição de 50% na primeira fase da dor e de 65% na Segunda fase da dor em relação ao controle. Quanto ao edema de pata, não apresentou atividade.

Os ensaios de atividade biológica foram realizados no laboratório de Microbiologia e Parasitologia da UFSC.

CONCLUSÕES

Foram estudadas três espécies do Gênero *Baccharis*: *Baccharis pseudotenuifolia* DC, *Baccharis ligustrina* DC e *Baccharis platypoda* DC.

- Do extrato etanólico de *Baccharis pseudotenuifolia* DC, foram isolados e identificados os ácido ursólico, ácido oleanólico, naringenina e 5,7,4'-trihidroxi-8-metoxiflavona. Esta última foi descrita pela primeira vez no Gênero *Baccharis*.
- Do extrato etanólico de *Baccharis ligustrina* DC, foram isolados e identificados spinasterol, ácido oleanólico, quercetina, Quercetina-3-O-ramnosideo e quercetina-3-O-glucosideo. spinasterol é relatado pela primeira vez em *Baccharis*.
- Do extrato de CHCl₃ da Inflorescência de *Baccharis platypoda* DC_- Foram isolados e identificados ácido kaurenóico, naringenina, naringenina-7-metoxi, quercetina-3-metoxi, baurenol e β -amirina. naringenina-7-metoxi e baurenol, que foram descritas pela primeira vez em espécies de *Baccharis*.
- Do extrato de CHCl₃ do caule de *Baccharis platypoda* DC, foi isolado e identificada apigenina-7-metoxi, descrito pela primeira vez em *Baccharis*.
- Do extrato EtOH da inflorescência de *Baccharis platypoda* DC, foram isolados e identificados as naringenina, taxifolina, taxifolina-3'-Acetil, eriodictiol e aromadendrina. Com exceção da naringenina, os demais flavonóides foram descritos pela primeira vez em espécies de *Baccharis*.

- Os extratos etanólicos apresentaram atividade antibacteriana contra as bactérias *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus saprophyticus*. Os extratos de CHCl_3 se mostraram-se inativos, indicando que a atividade antibacteriana está relacionada com os flavonóides mais polares
- As *B. pseudotenuifolia* DC e *B. Platypode* DC foram ativas contra forma de cultura de *Tripanosoma cruzi*, apresentando uma DL_{50} de 50 $\mu\text{g/mL}$ e 10 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.
- A *B. ligustrina* DC apresentou atividade analgésica e antiinflamatória. O único composto testado foi o 5,7,4'-trihidroxi-8-metoxiflavona causando inibição de 50 e 60% na primeira e segunda fase da dor numa dose de 10 mg/Kg (i.p.).
- A diversidade de flavonoides identificadas nestas três espécies de *Baccharis* reforçam sua importância do ponto de vista quimiotaxonômico.

BIBLIOGRAFIA

- 1- RACINE Revista Ano V, N° 29 Out/Nov/Dez. 1995, pg 10
- 2- RACINE Revista Ano VII, N°39 Jul/ago/.set. 1997, pg 64
- 3- NESOM, G.L: Infrageneric taxonomy of North and Central American *Baccharis* (Asteraceae : Asteraceae).*Phytologia* 1990, 69 : 40-46.
- 4- LAWRENCE,G.H.M.: *Taxonomy of Vascular Plants*. New York, The MacMillan Company, 1951,pp. 726-732.
- 5- BARROSO,G.: Compositae-subtribo *Baccharidinae* Hoffmann: Estudo das especies ocorrente no Brasil. *Rev. Rodriguesia* 1976, 40: 7-253.
- 6- MATUDA, E.: El genero *Baccharis* en Mexico. *Ann. Inst. Biol. Mex.* 1957, 28: 143-174.
- 7- CUATRECASAS,J.: Revision de las especies Colombianas del generon *Baccharis*. *Rev. Acad. Colombiana Cienc. Exact. Fis. Nat.* 1967, 13: 5-102.
- 8- ESPINAR, L: Las especies de *Baccharis* (compositae) de Argentina Central. *Trobajos del Museo Bot. Univ. Nac. Cordoba* 1973, 50: 175-305.
- 9- WOODSON, Jr. R.E., Schary, R. W., and D'Acry, W.G.: Flora of Panama.Part IX. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 1975, 62: 1011-1017.
- 10-BOLDT, P.E: *Baccharis* (Asteraceae), a Review of Its Taxonomy, Phytochemistry, Ecology, Economic Status, Natural Enemies and the Potencial for Its Biological Control in the United States. The Texas Agricultural Experimental Station, Collage Station, Texas, The A & M University System, 1989.
- 11-DELOACH, C. Prognosis for biological control of weeds of southwestern U.S. rangelands *In* E. Delfosse (ed.) *Proc.V Int. Symp. Biol. Contr. Weeds*, Brisbane. Australia 1978, pp. 175-199.
- 12-MARTINS A ., Giovovich A, and Castilho M., *Phytochemistry*, 1986, 25, 264.
- 13-KUROYANAGI, M., Fujita, K., Kazaoka, M., Matsumoto, S., Ueno, A., Fukushima, S., and Katsuoka , M. Studies on the constituents of *Baccharis genistelloides*. *Chem. Pharm. Bull.*1985, 3: 5075-5078.

- 14- ZDERO, C., Bohlmann, F., King, R.M., and Robinson, H.: Diterpene glycosides and other constituents from Argentinian *Baccharis* Species. *Phytochemistry* **1986**, 25: 2841-2855.
- 15- WESTMAN, W., Panetta, and T. Stanley. 1975. Ecological studies on reproduction and establishment of the woody weed, groundsel bush (*Baccharis halimifolia* L.: Asteraceae). *Australia J. Agric. Res.* **1975**, 26: 855-870.
- 16- DUPONT, P. L'extension de *Baccharis halimifolia* entre Loire et Gironde. *Bull. Soc. Sci. Bretagne* **1966**, 41: 141-144.
- 17- TARVER, D., J. Rodgers, M. Mahler, and L. Lazor. Aquatic and wetland plants of Florida. Florida Dept. Natural Resources **1979**, p. 72.
- 18- TEODORO-LUIS, T. Novum Index Baccharidinarum (Compositae). *Contr. Inst. Geobiol. (Brazil)* **1958**, 9: 1-35.
- 19- MCFADYEN, P. Introduction of the gall fly, *Rhop. almyia* California from the USA into Australia for the control of the weed *Baccharis halimifolia* .In E. Delfosse (ed.) *Proc. VI Int. Symp. Biol. Contr. Weeds, Vancouver, Canada.* **1985**, Pp 779-787.
- 20- HABERMEHL, G., L. Busam, P. Heydel, D. Mebs. C. Tokarnia, J. Dobereiner, and M. Spraul. Macrocyclic trichothecenes: Cause of livestock poisoning by the Brazilian plant *Baccharis coridifolia*. *Toxicon* **1985**, 23: 731-745.
- 21- JUHREN, M. and K. Montgomery. Long-term responses of *Cistus* and certain other introduced shrubs on disturbed wildland sites in southern California. *Ecol.* **1977**, 58: 129-138.
- 22- KUPCHAN, S., B. Jarvis, R. Dailey, Jr., W. Bright, R. Bryan, and Y. Shizuri, Baccharin, a novel potent antileukemic trichothecene triepoxide from *Baccharis megapotamica*. *J. Amer. Chem. Soc.* **1976**, 98: 7092-7093.
- 23- TORKANIA, C. and J. Dobereiner. Intoxicacao experimental em bovinos por "Mio-Mio", *Baccharis coridifolia*. *Pesq. Agropec. Brasil. Ser. Vet.* **1975**, 10: 79-97.

- 24- SCHANG, R. Accion toxica del romerillo o mio-mio (*Baccharis coridifolia*). Alguns conceptos nuevos. Rev. Med. Buenos Aires 1929, 11: 151-181.
- 25- ANDRIEW. A. Contribucion al estudio toxicologico del *Baccharis coridifolia* en los ovinos. Rev. Centro de Estudiantes de Agon 1907, 3: 118-131.
- 26- ARISAWA, M., A. Kinghorn, G. Cordell, C. Phoebe, and N. Fansworth. Plant anticancer agents 36. Schottenol glucoside from *Baccharis coridifolia* and *Ipomopsis aggregata*. Planta Medica 1985, 6: 544-545.
- 27- JARVIS, B. Trichothecene mycotoxins and their interaction with plants. Steyn and R. Vleggar (eds.) Mycotoxins and Phycotoxins. Elsevier Sci. Pub. Amsterdam. 1986, Pp. 153-160.
- 28- JARVIS, B. J. Midiwo, G. Bean. M. Aboul-Nasr, and C. Barros. The mystery of trichothecene antibiotics in *Baccharis species*. J. Nat. Prod. 1988, 51: 736-744.
- 29- BENSON, L. and R. Darrow. 1981. Trees and shrubs of the southwestern desert. Univ. Ariz. Press, Tucson. 1981, pp. 334-338.
- 30- POVOLNY, D. *Scrobipalpopsis* (*Scrobischema* subgen.) vergarai sp.n., a potential pest species in colombia (Lepidoptera, Gelechiidae). Acta Entomol. Bohemoslovaca 1980, 77: 55-63.
- 31- McBRIDE, J. and H. Heady. Invasion of grassland by *Baccharis pilularis* DC. J. Range Manage. 1986, 21: 106-108.
- 32- BAILEY, L. and E. Bailey. Hortus Third. MacMillan Co. New York. 1976 pp. 133.
- 33- PARKER, K. NA ILLUSTRATED GUIDE TO ARIZONA WEEDS. Univ. Ariz. Press. Tucson. 1972, pp 278-279.
- 34- HERZ, W., Pilotti, A-M., Söderholm, A.C., Shuhama, I.K., and Vichnewski, W.: New ent-clerodane-type diterpenoids from *Baccharis trimera*. J. Org. Chem. 1977, 42: 3913-3917.
- 35- DAY, A and Ludeke. Reclamation of copper mine wastes with shrubs in the southwestern U.S.A. J. Arid Environ. 1980, 3: 107-112.

- 36-COULSON, J. and R. Soper. Protocolos for the introduction of biological control of biological control of weeds. In R. Kahn (ed) Plant Quarantine Vol.3. C.R.C. Press (in press). 1988.
- 37- WOLLENWEBER, E., I. Schober, P. Dostal, D. Hradetzky, F. Arriga-Giner, and G. Yatskievych. Flavanoids and terpenoids from the exudates of some *Baccharis* species. *Z. Naturforsch.* 1986, 41: 87-93
- 38- PELLETT, F. American Honey Plants Amer. Bee J. Hamilton. 1930.
- 39- MORTL, O. and A. Trka. Zusammensetzung des brasilianischen Vassouras (aus *Baccharis dracunculifolia*). *Parfum Kosmet*, 1983, 64: 488-491.
- 40- BANDINI, A. J., Campovono, L.E, Marenzi, A. D., and Rossignoli, J.J., eds.: Pharmacopea Nacional Argentina Fifth Edition. Buenos Aires, Argentina Tallares Gráficos del Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública, 1966, pp. 183-184.
- 41- NESOM, G.L.: *Baccharis monoica* (Compositae: Astereae), a monoecious species of the *B. salicifolia* complex from Mexico and Central America. *Phytologia* 1988, 65: 160-164.
- 42- TONN, C.E. and Giordano, O. S.: A new furane diterpene from *Baccharis crispa* Sprengel. *Anales Asoc. Quim. Argentina*. 1980, 68: 237-241.
- 43- HOOBS, R, and H. Mooney, Vegetative regrowth following cutting in the shrub. *Baccharis pilularis* SSP. *consanguinea* (DC). *Wolf. Amer. J. Bot.* 1985, 72: 514-519.
- 44- COMSTOCK, J., T. Cooper, and J. Ehleringer. 1988. Seasonal patterns of canopy development and Carbon gain in nineteen warm desert shrub species. *Oecologia*. 1988, 75: 327-33.
- 45- WELLS, B. Plant communities of the coastal plain of North Carolina and their successional relations. *Ecol.* 1928, 9: 230-243.
- 46- FUENTES, E., A. Hoffmann, A. Poiani, and M. Alliende. Vegetation changes in large clearings: Patterns in the Chilean material. *Oecol.* 1986, 68: 358-366.
- 47- HERZ, W. Astereae, chemical review. In. V. Heywood, J. Harborne, and B. Turner (eds) *Biology and Chemistry of Compositae*. Academic Press. New. York. 1977, Chapt. 20. pp. 567-576.

- 48- GONZALEZ, F., Sagua, H., Araya, J., Loyola, A., Morales, G., Pereira, J., and Estrada, M.: *In vitro* activity of natural products against the trypomastigote form of *Trypanosoma cruzi*. *Phytother. Res.* 1990, 4:1-4.
- 49- BANDANI, A. L., Mendiondo, M.E., Rondina, R.V.D., and Coussio, J.D.: Survey of Argentine medicinal plants. I. Folklore and phytochemical screening *Lloydia* 1972, 35: 69-80.
- 50- BHAKUNI, D.S., Bittner, M., Marticorena, C., Silva, M., Weldt, E., Hoeneisen, M., and Hartwell, J.L.: Screening of Chilean plants for anticancer activity. I. *Lloydia*, 1974, 37: 621-5-243.
- 51- SAGGESE, D.: *Medicinal Herbs of Argentina*. Rosario, Argentina, Antognazzi & Co., pp 1959, 1-189.
- 52- TONN, C.E. and Giordano, O. S.: A new diterpene, from bacrispine, isolated from *Baccharis crispa* Sprengel, *Anales Asoc. Quim. Argentina* 1979, 67: 1-8.
- 53- BANDONI, A. L., Medina, J.E., Rondina, R.V.D., and Coussio, J.D.: Genus *Baccharis* L.I. Phytochemical investigation of a non-polar fraction from *B. crispa* Sprengel. *Planta Med.* 1978, 34: 328-331.
- 54- GIONELLO, J. C. and Giodano, O. S.: Chemical examination of six species of *Baccharis*. *Rev. Latinoamer. Quim.* 1984, 15: 84-86.
- 55- PALACIOS, P., Gutkind, G., Rondina, R.V.D., De Torres, R., and Coussio, J.D.: Genus *Baccharis* II. Antimicrobial activity of *B. cripa* and *B. notoserigila*. *Planta Med.* 1983, 49: 128.
- 56- MENDEZ, A., O. Nunez. C. Rosquete, and A. Montilla. Flavones del *Baccharis decussata* (Klatt) Hieron. *Ann. Quim. Ser. C Quim. Org. Bioquim.* 1984, 80: 98-99.
- 57- FAINI, F., M., Castillo, and M. Torres. Flavanoids of *Baccharis incarum*. *J. Nat. Prod.* 1982, 45(4): 501-502.
- 58- GIBERTI, G. C.: Herbal folk medicine in Northwestern Argentina: Compositae. *J. Ethnopharmacol.* 1983, 7: 321-341
- 59- BOCEK, B.R. : Ethnobotany of Costanoan Indians, California, based on collections by P. Harrington. *Econ. Bot.* 1984, 38: 240-255

- 60- ANTHONSEN, T., T. Brun, E. Hemmer, D.Holme, A . Lamivik, E. sunde, and N.Sorensen., *Baccharis oxide*, a new triterpenoid from *Baccharis halimifolia* L. *Acta Chem. Scandinavica* **1970**, 24:2479-2488.
- 61- BOHLMANN, F., W. Kramp, M.Grenz, H., Robinson, and R. King. Diterpenes from *Baccharis species*. *Phytochem.***1981**^a,20:1907-1913.
- 62- BOHLMANN, F., Banerjee, S., Jakupovic, J., Grenz, M., Misra, L.N., Schmeda-Hirschmann,G., King, R. M., and Robinson, H.: Clerodane and labdane diterpenoids from *Baccharis Species*, *Phytochemistry*. **1985**, 24: 511-515.
- 63- BHAKUNI, D.S., Bittner, M., Marticorena, C., Silva, M., Weldt, E., Hoeneisen, M., and Hartwell, J.L: Screening of Chilean plants for anticancer activity. *I. Lloydia* **1976**. 39: 225-243
- 64- BOHLMANN, F., Knauf, W., King, R.M., and Robinson, H.: A new diterpene and additional constituents from *Baccharis species* *Phytochemistry*. **1979**,18:1011-1014.
- 65- LABBE, C., Rovirosa, F. Faini, Mahu, A. San-Martin, and M. Castillo.Secondary metabolites from Chilean *Baccharis species*. *J.Nat. Prod.* **1986**. 49: 517-518
- 66- WOLLENWEBER, E., I. Schober, P. Dostal, D.Hradetzky, F. Arriaga-Giner, and G. Yatskievych. Flavanoids and terpenoids from the exudates of some *Baccharis species*. *Z Naturforsch.***1986**, 41:87-93.
- 67- ZDERO, C., F. Bohlmann, F., Solomon. J.C., King, R. M., Robinson, H.: Ent-clerodanes and other constituents from Bolivian *Baccharis species*. *Phytochemistry*. **1989**, 28: 531-542.
- 68- SOICKE, H. and Leng-Peschlow, E: Characterisation of flavonoids from *Baccharis trimera* and their antihepatotoxic properties. *Planta Med.* **1987**, 53: 37-39.
- 69- GEISSMAN.,TA e Croot, D.H.Q, Organic Chemistry of secondary plant metabolism- San Francisc: Freeman cooper **1969**. 577. 1G. 3130.
- 70- Torsselli. K.B "Produto Natural Chemistry A. Mechanistic. E Biosintestic Approach to secodary Metabolism "John wiley e Jons **1983**.

- 71- SMÂNIA, A.Jr., Delle Monache, F., Smânia, E.F., Gil, M.L., Benchetrit, L.C. and Cruz, F.S. , Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (1995). *Journal of Ethnopharmacology*, **1995**, 45, 177-181.
- 72- SMÂNIA, A. Jr., Smânia E, F., zani C. L., Grand: T.S. M., Silva A. F., Alves T.M. Almeida *Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants*. Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, **2000**, vol. 95 (3): 367-373.
- 73- ^{13}C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids. A compilation And some Salient features, *Phytochemistry*, **1994**, vol. 37. N° 6, pp, 1517-1575.
- 74- Carbon -13 NMR of flavonoids; P.K. Agrawal. Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Lucknow, India, Amsterdam, Oxford, New York - Tokyo **1989**.

ANEXO

CATÁLOGO DE ESPECTROS

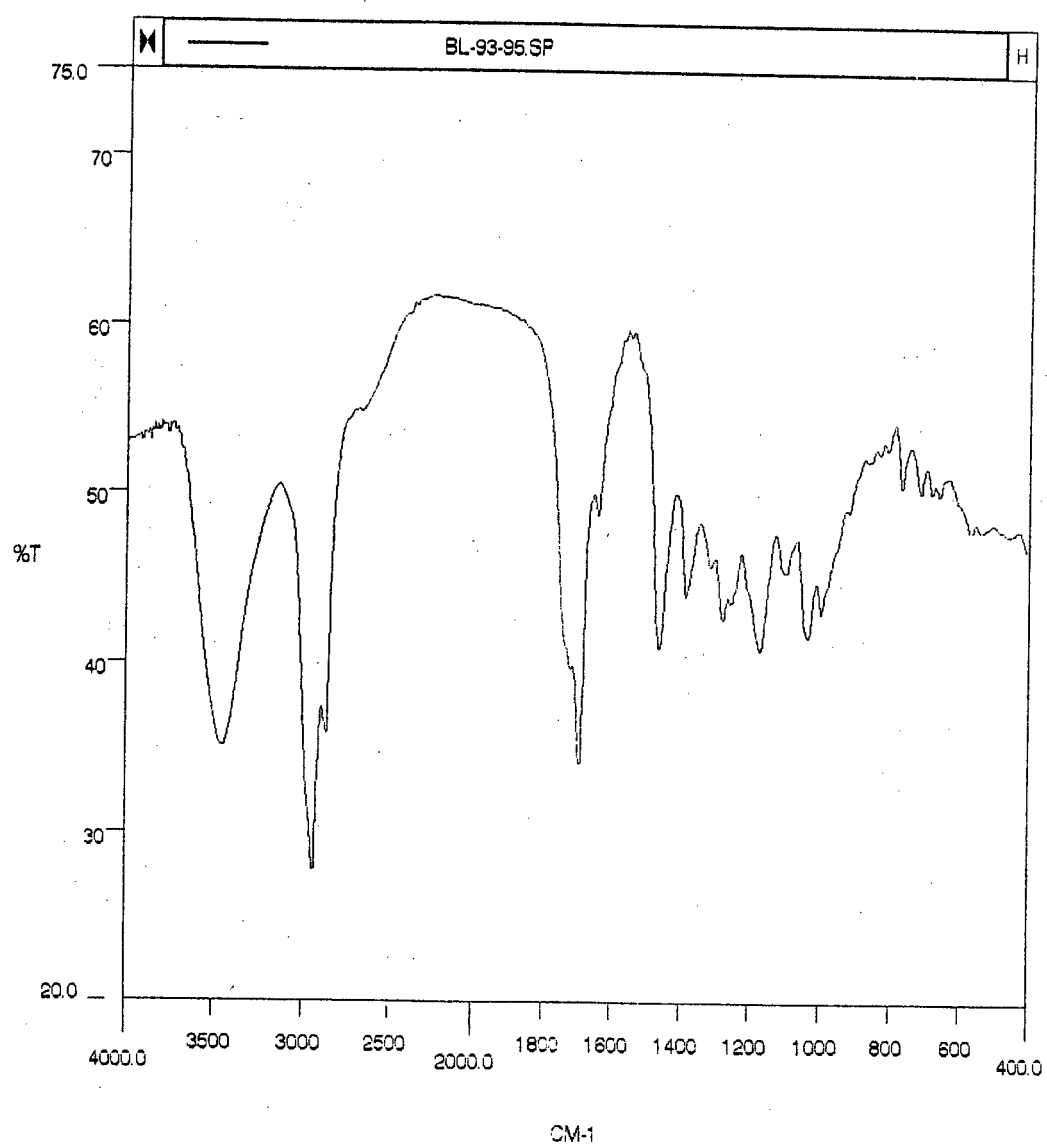


FIGURA- 1: Espectro de Infravermelho do Ácido Ursólico (1), em KBr

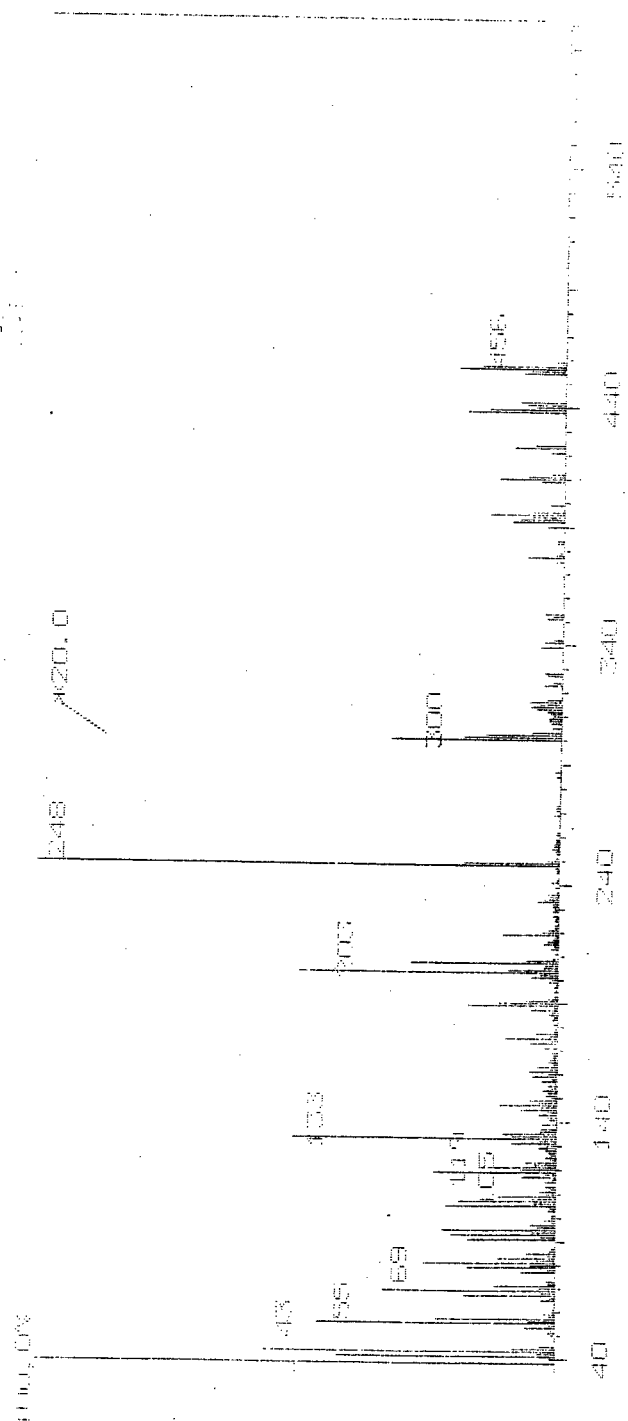


FIGURA - 2: Espectro de massas (70 e V) do Ácido Ursólico (1)

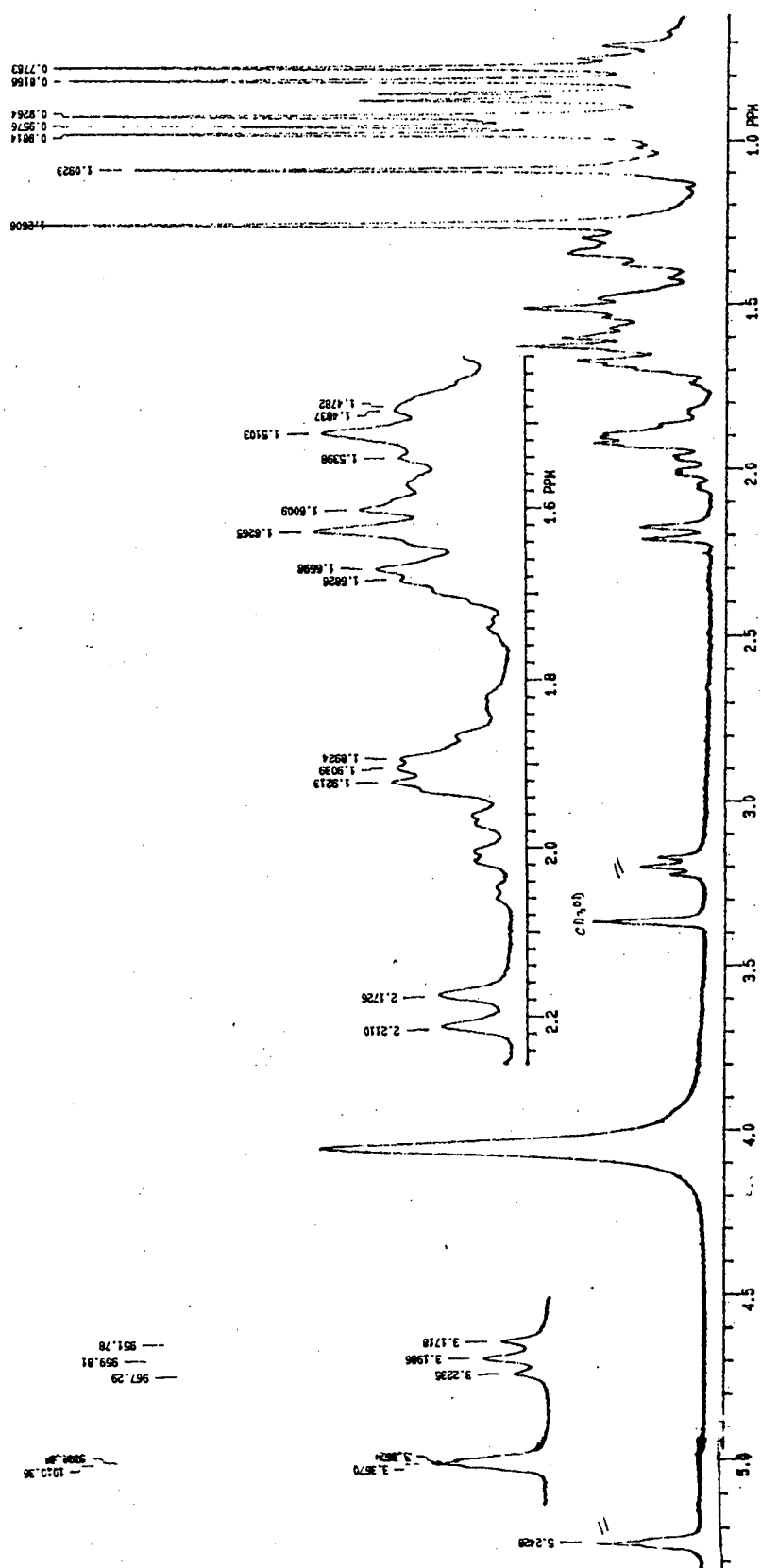


FIGURA - 3: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) do Ácido Ursólico (1)

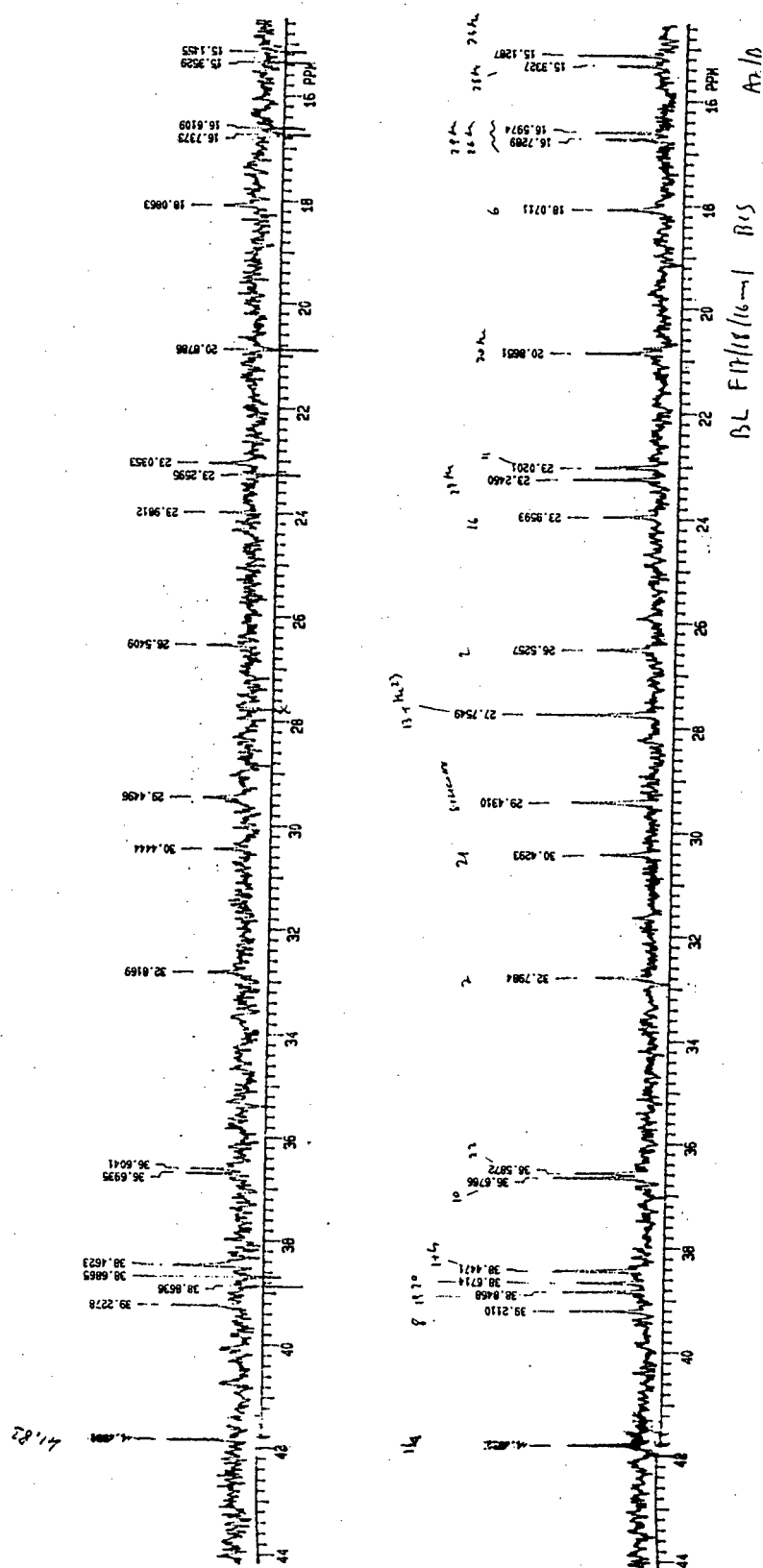


FIGURA- 4: Espectro RMN $^{13}\text{C}/\text{APT}$ (CD_3OD , 75 MHz) do Ácido Ursólico 1 na região de 4- 45 ppm

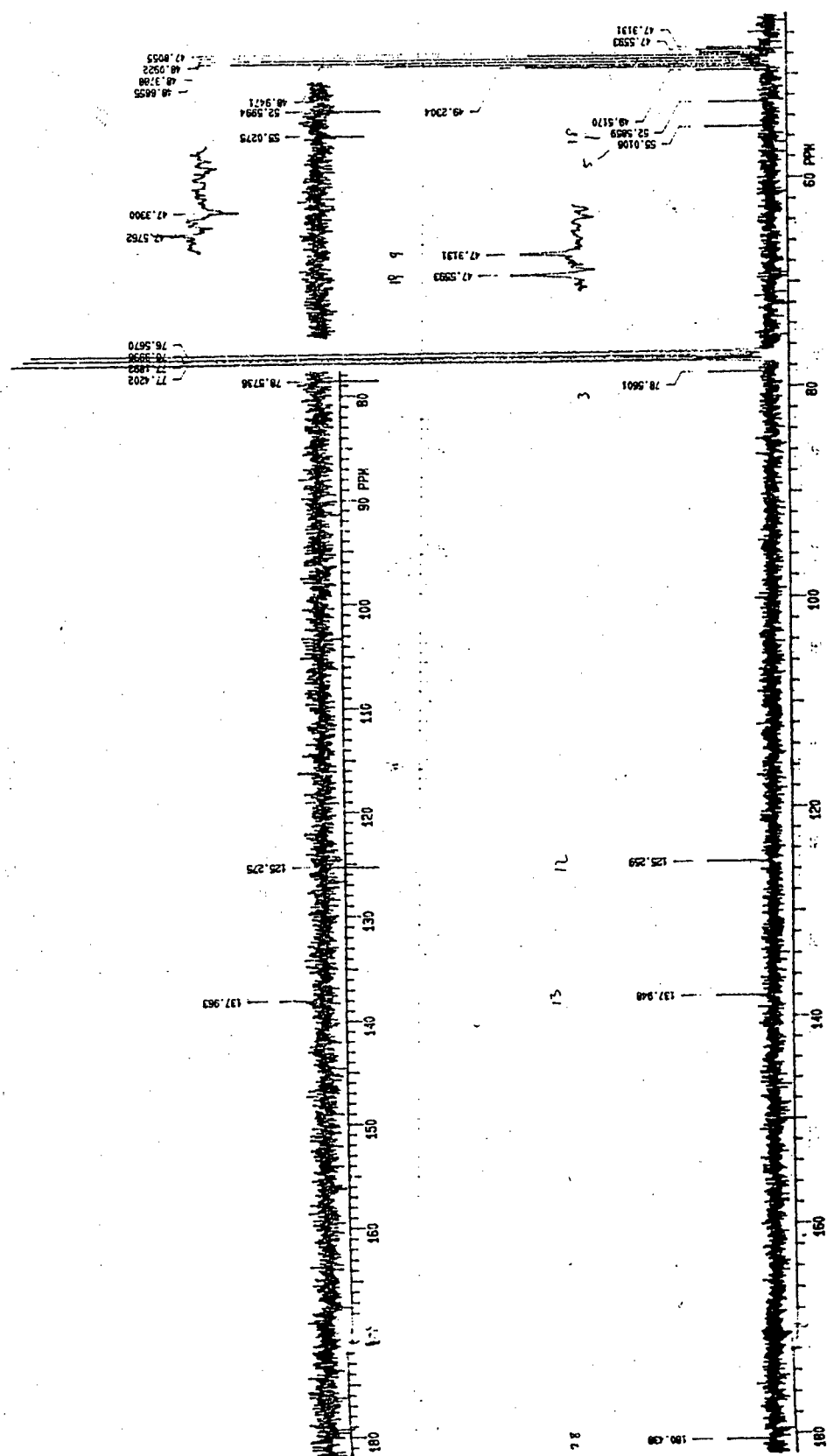


FIGURA - 5: Espectro RMN ^{13}C /APT (CD_3OD , 75 MHz) do Ácido Ursólico (I) na região de 45 - 185 ppm

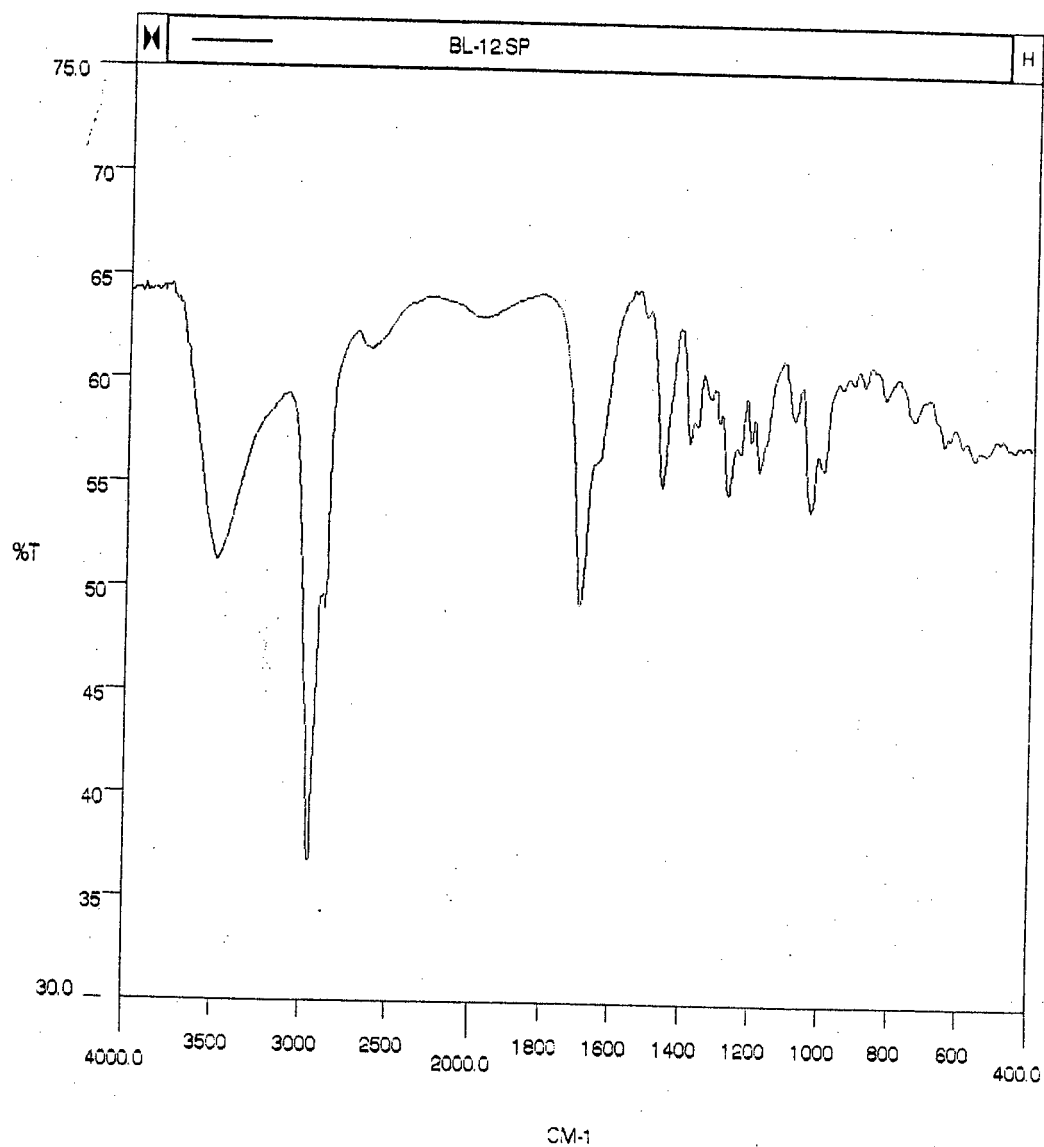


FIGURA- 6: Espectro de Infravermelho do Ácido Oleanólico (2), em KBr

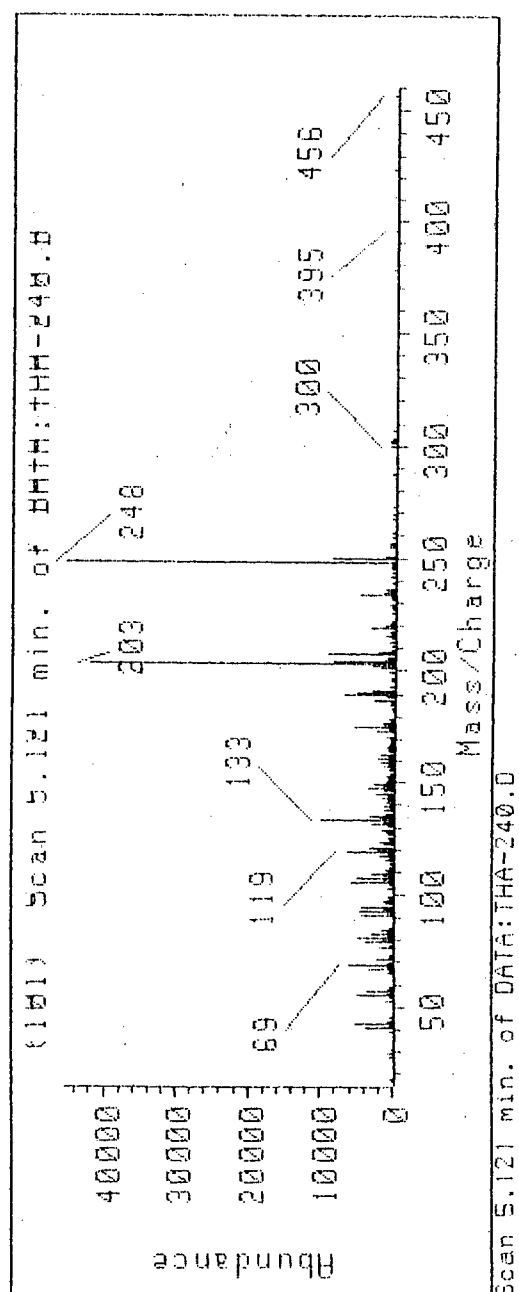


FIGURA - 7: Espectro de massas (70 eV) do Ácido Oleanólico (2)

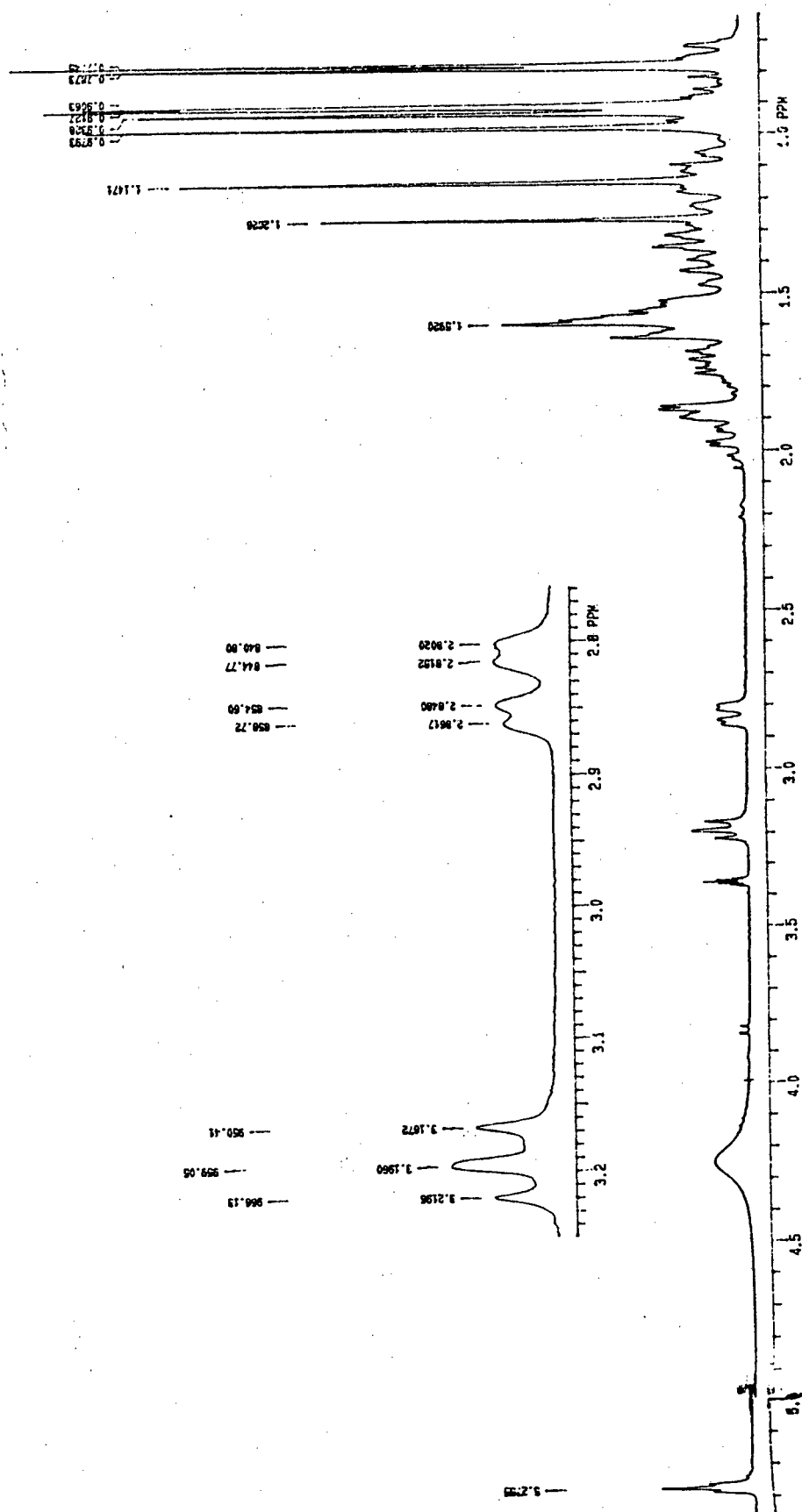


FIGURA - 8: Espectro RMN ^1H (CD_3OD 300 Mz) do Ácido Oleolico (2),

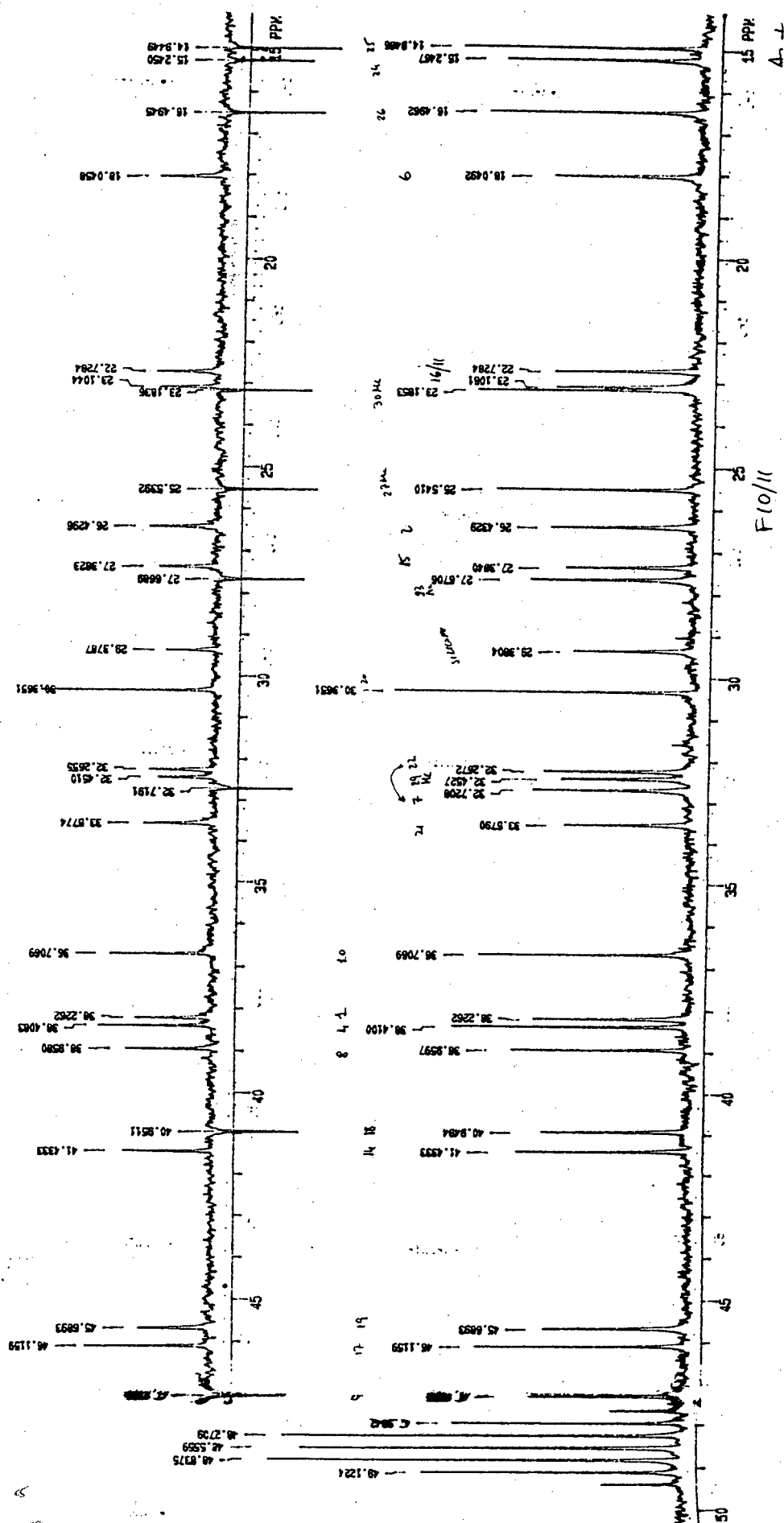


FIGURA - 9: Espectro de RMN $^{13}\text{C}/\text{APT}$ (CD_3OD ; 75 MHz) do Ácido Oleonolico (2) na região de 10 - 50 ppm

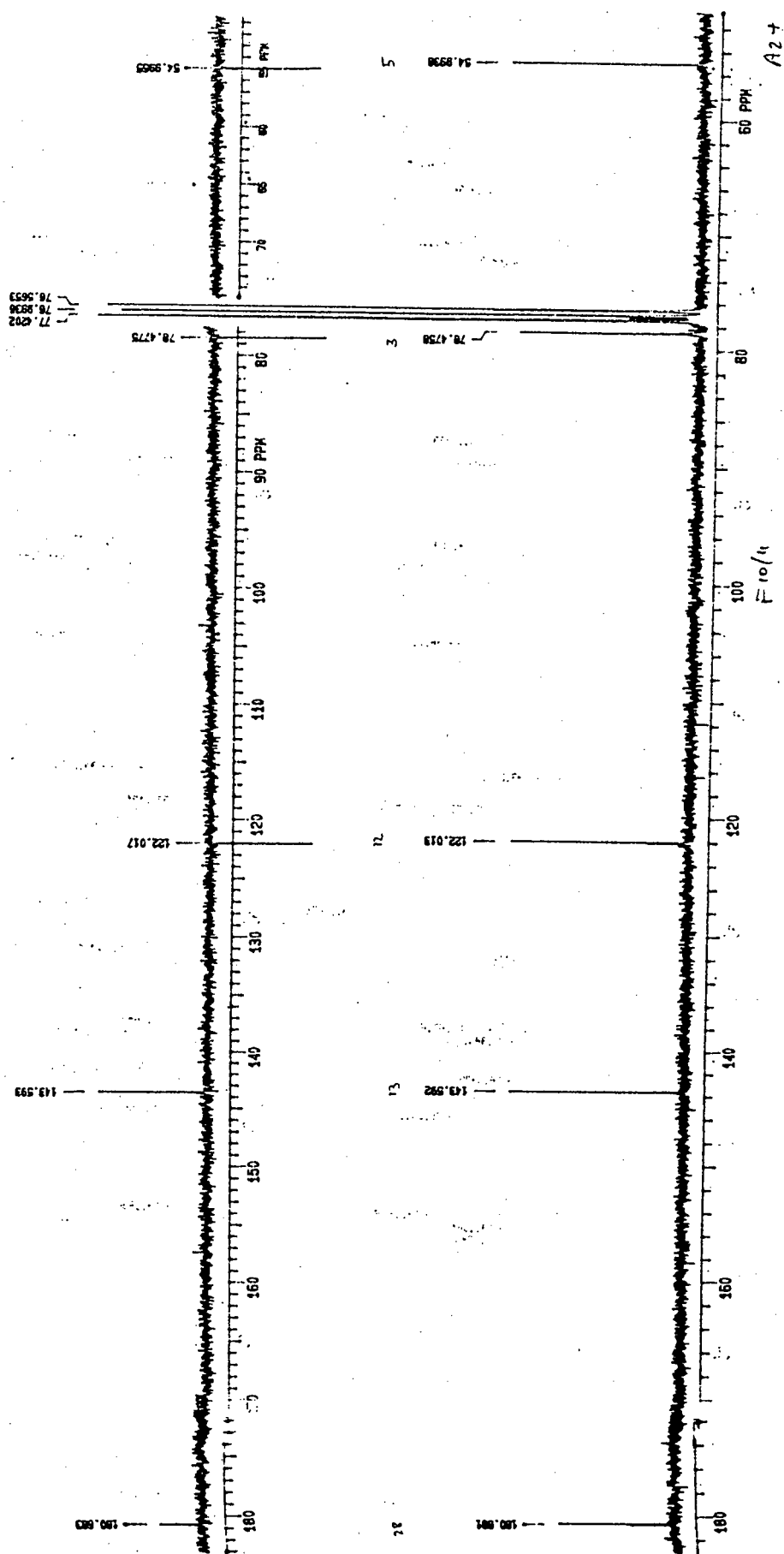
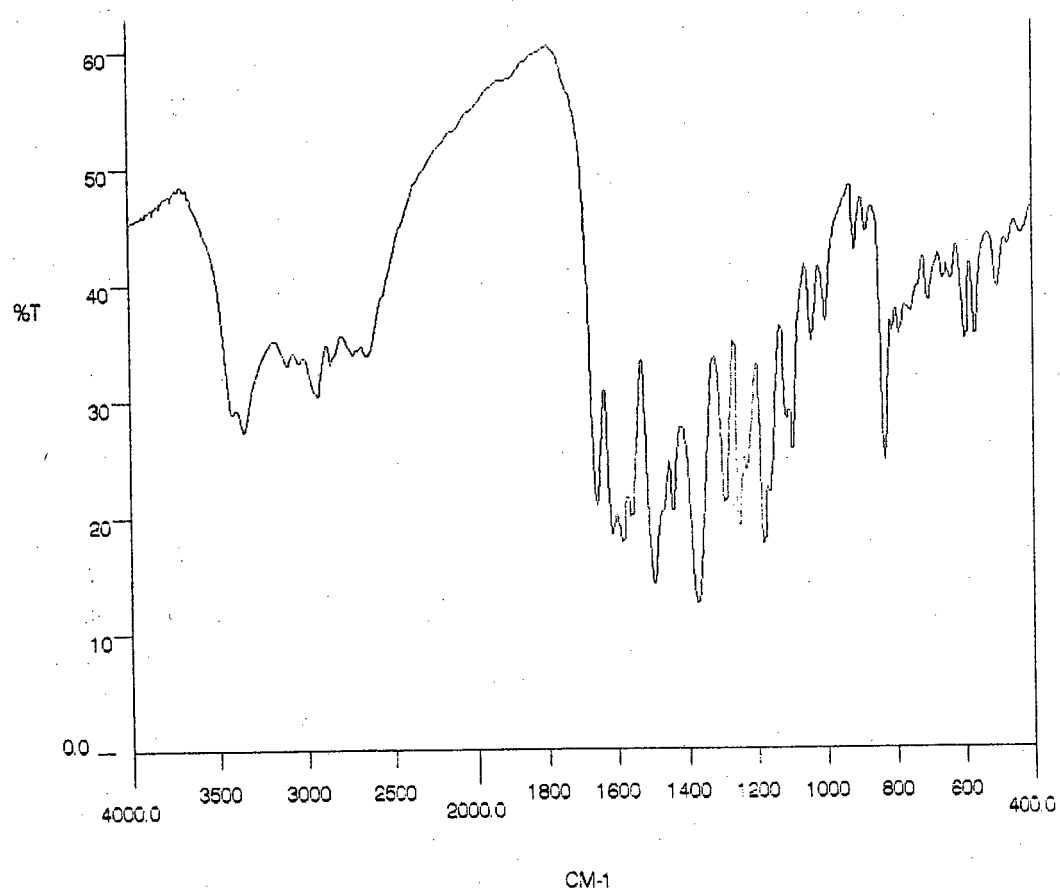


FIGURA - 10: Espectro RMN ^{13}C /APT (CD_3OD , 75 MHz) do Ácido Oleico (2) na região de 50 - 185 ppm



3336.0	27.44	3092.0	33.11	2920.0	30.49	2846.0	33.21	2640.0	33.92
1654.0	21.15	1610.0	18.57	1582.0	17.84	1558.0	20.06	1494.0	14.24
1440.0	20.59	1370.0	12.56	1292.0	21.28	1250.0	19.27	1228.0	24.21
1178.0	17.69	1112.0	28.59	1096.0	26.01	1038.0	35.14	998.0	36.87
914.0	42.99	882.0	44.71	828.0	25.00	808.0	36.08	786.0	35.72
702.0	38.66	660.0	40.44	636.0	40.50	596.0	35.31	566.0	35.73
502.0	39.72	432.0	44.44						

FIGURA- 11: Espectro de Infravermelho de 5,7,4'- trihidroxi -8- metoxi flavona (4) em KBr

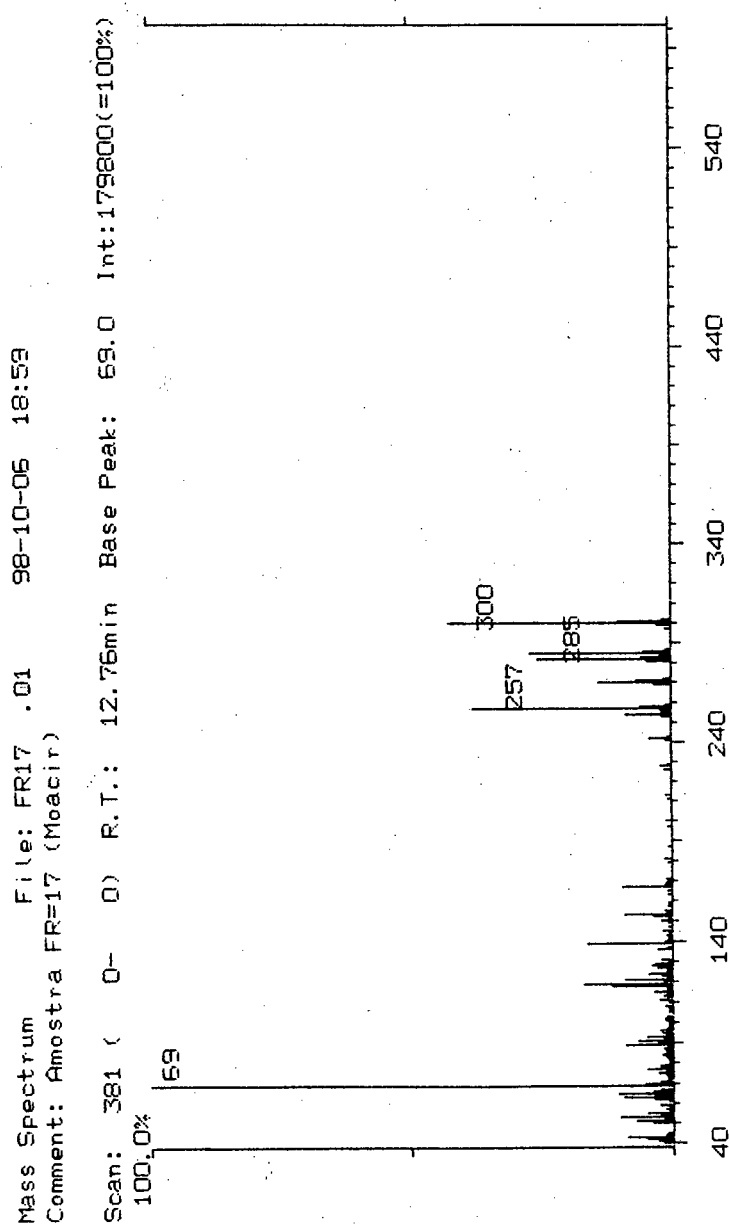


FIGURA-12: Espectro de massas (70 eV) de 5,7,4'-trihidroxi -8- metoxi flavona (4)

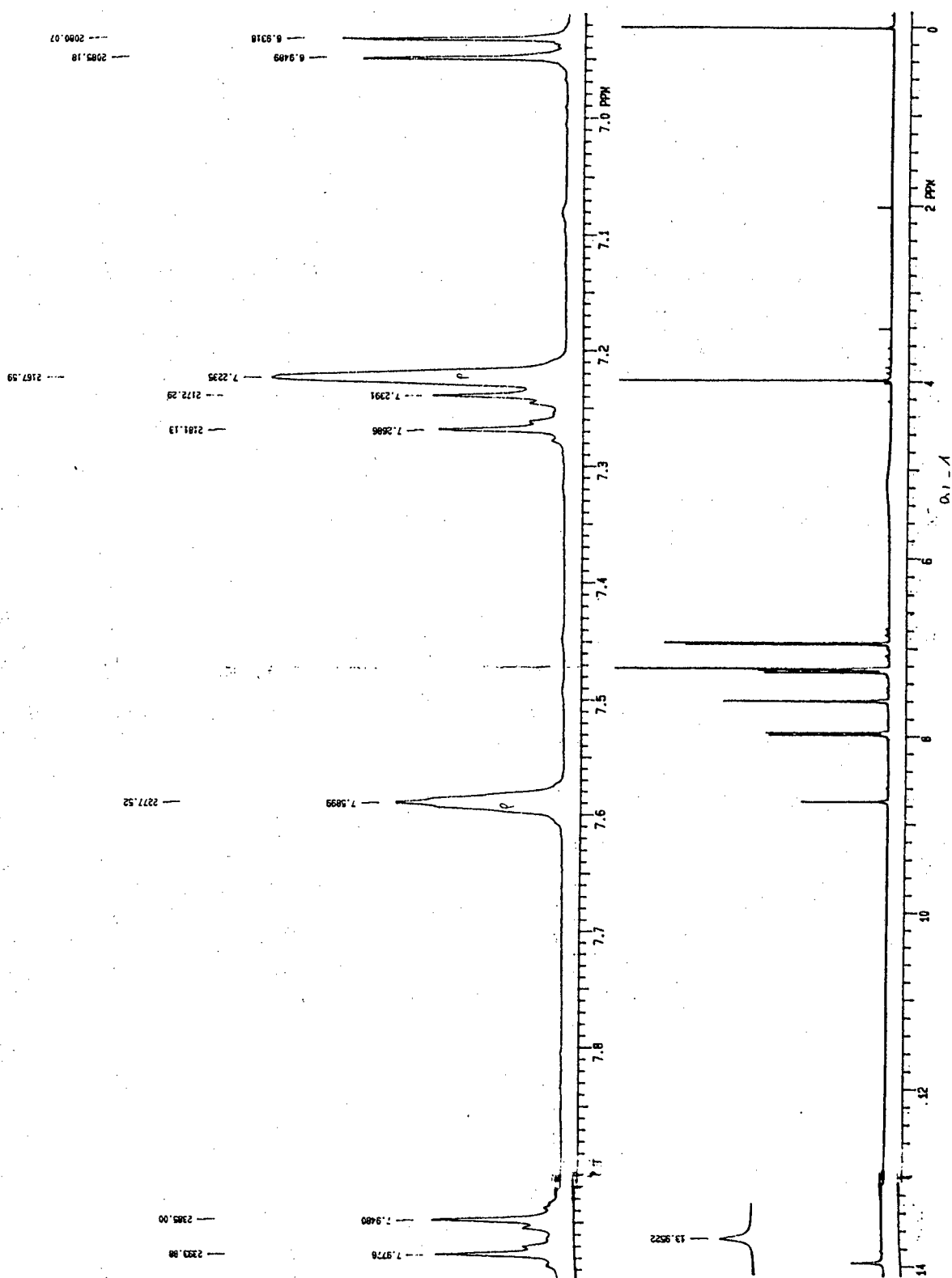


FIGURA-13: Espectro RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz) de 5,7,4'- trihidroxi -8- metoxi flavona (4)

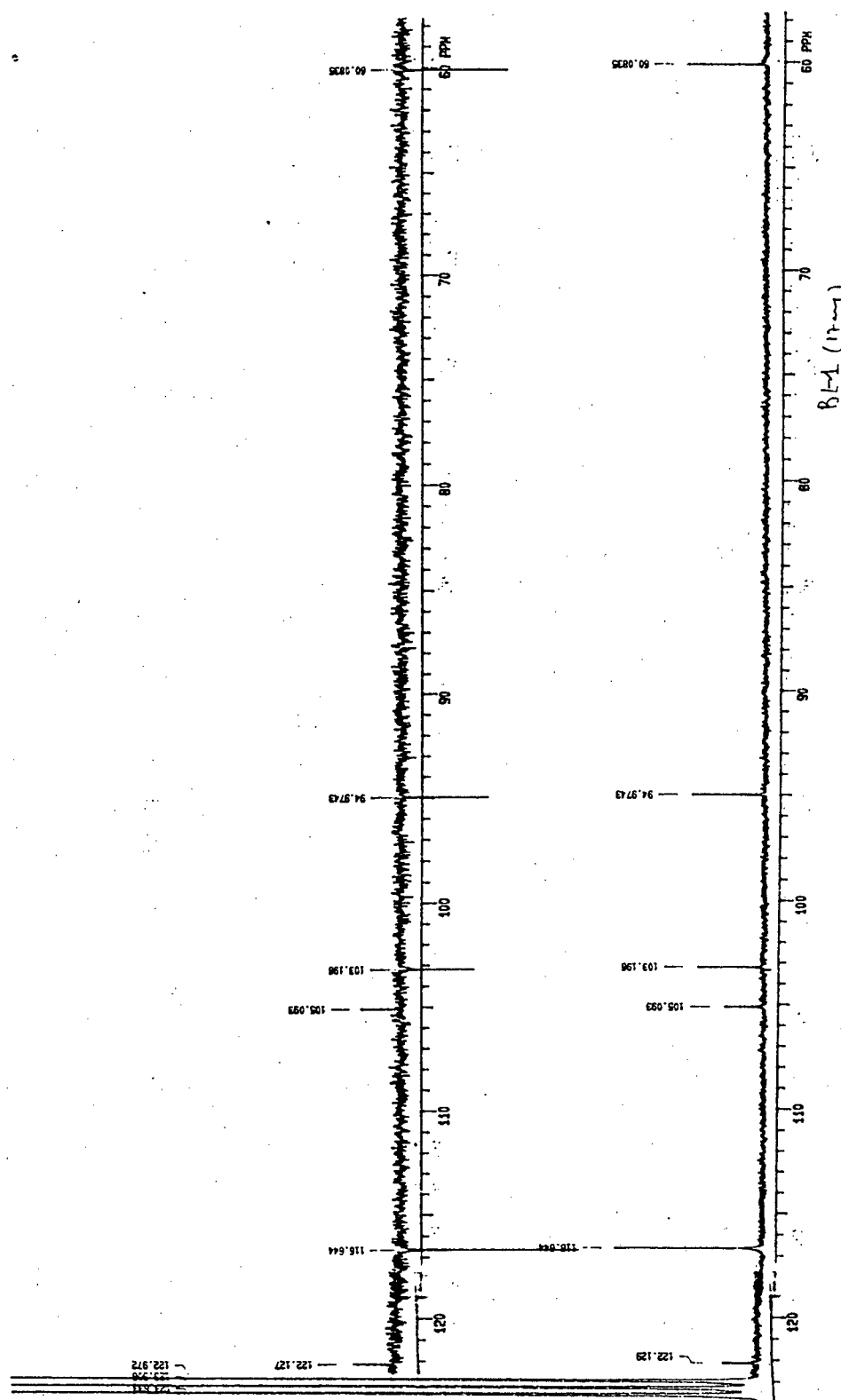


FIGURA- 14: Espectro RMN ^{13}C /APT (CD_3OD , 75 MHz) de 5,7,4'-trihidroxi -8- metoxi flavona (4) na região de 50 - 125 ppm

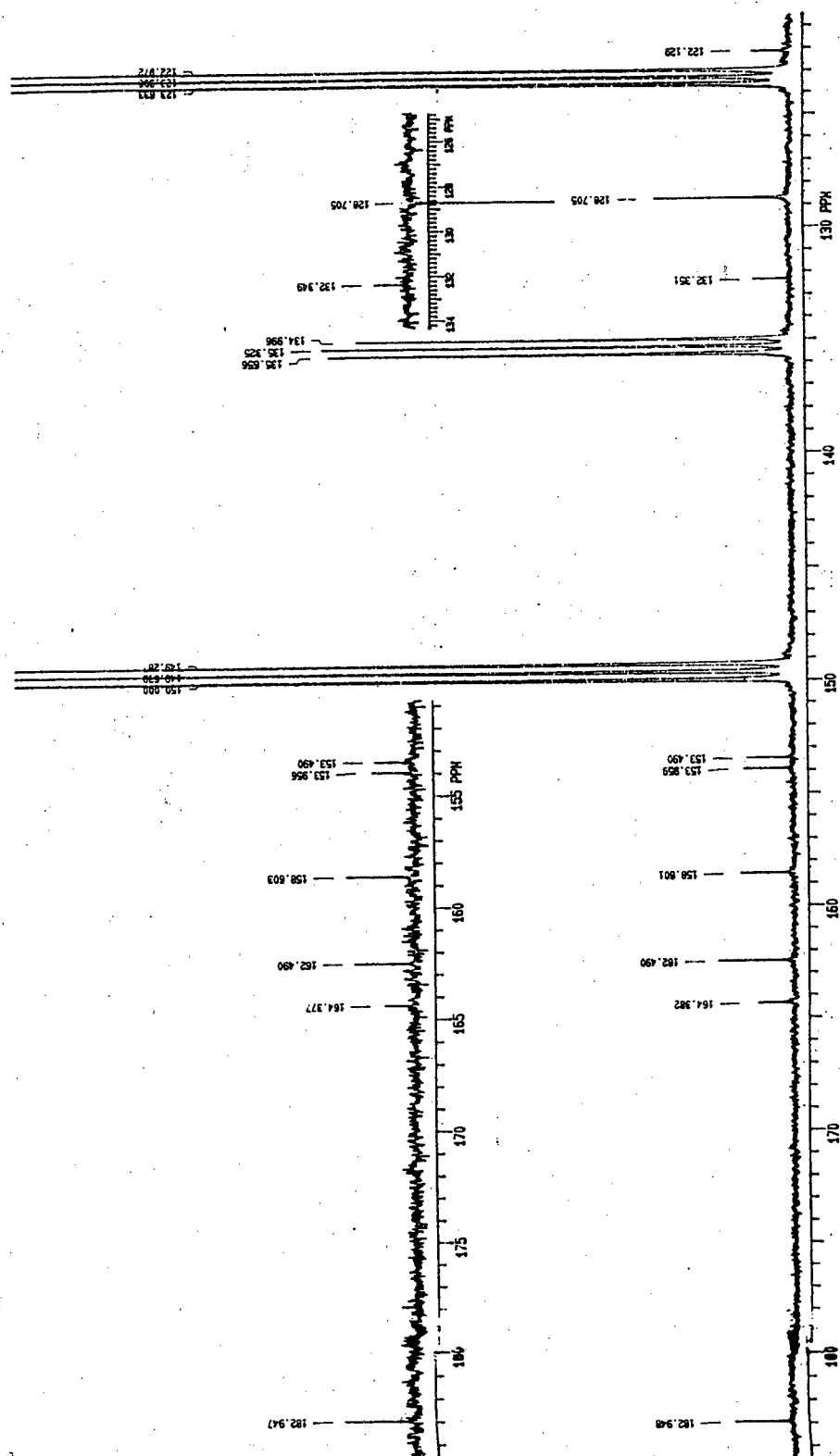


FIGURA- 15: Espectro RMN $^{13}\text{C}/\text{APT}(\text{CD}_3\text{OD}$, 75 MHz) de 5,7,4'- trihidroxi -8- metoxi flavona (4) na região de 120-190 ppm

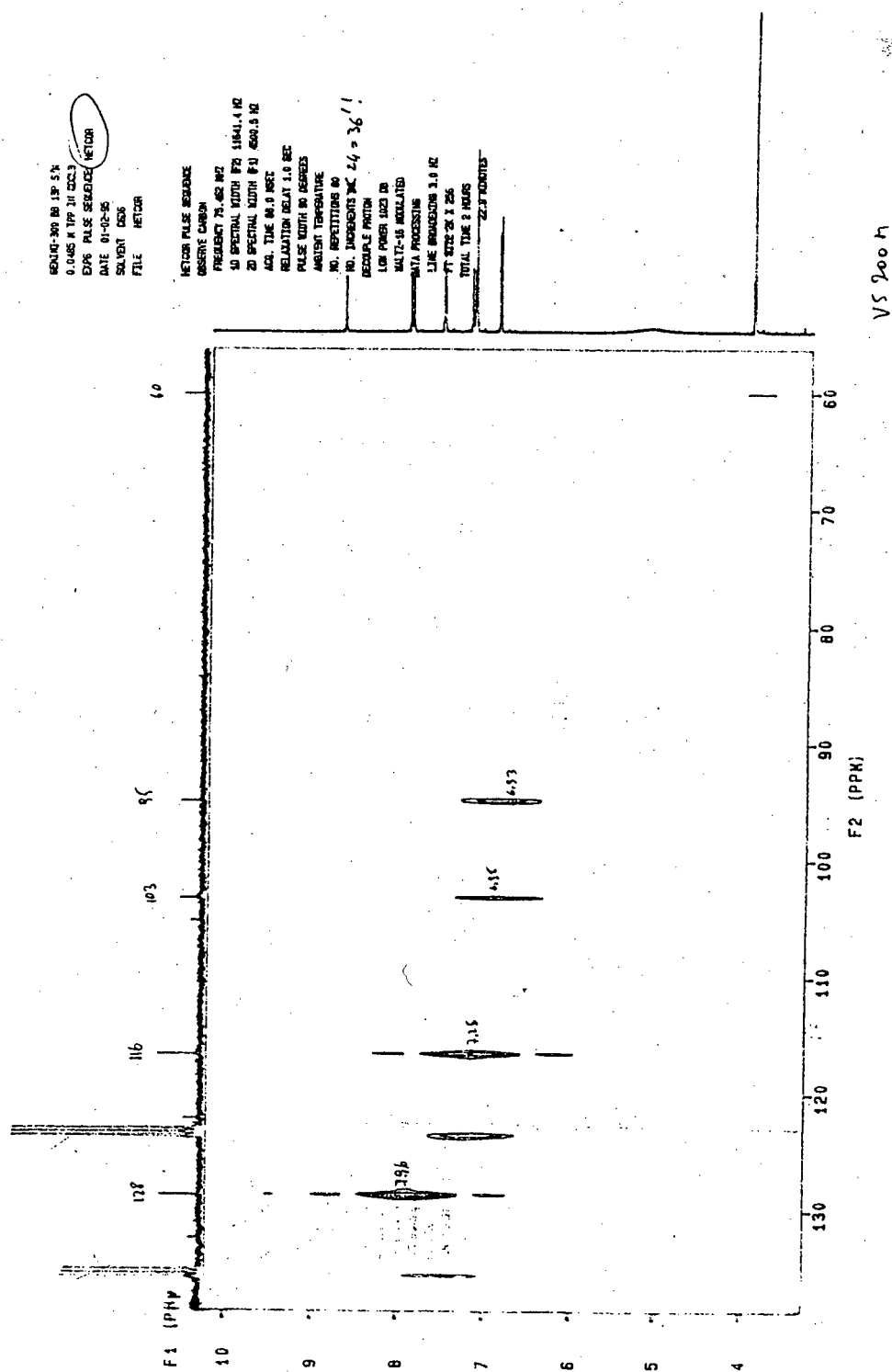


FIGURA 16: Espectro HETCOR de 5,7,4'-trihidroxi-8-metoxi flavona (4)

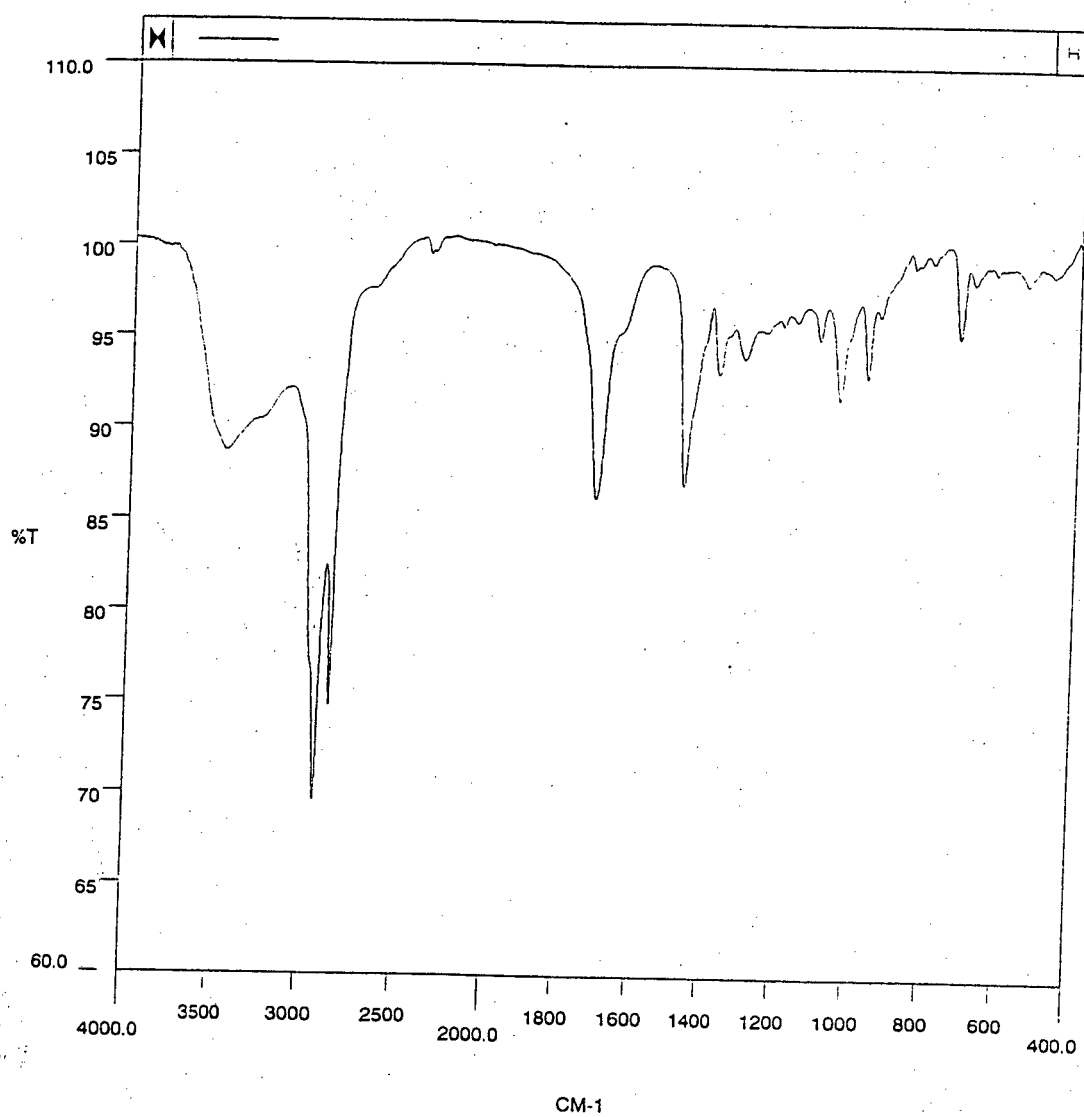


FIGURA -18: Espectro de Infravermelho do Spinasterol (5) em KBr

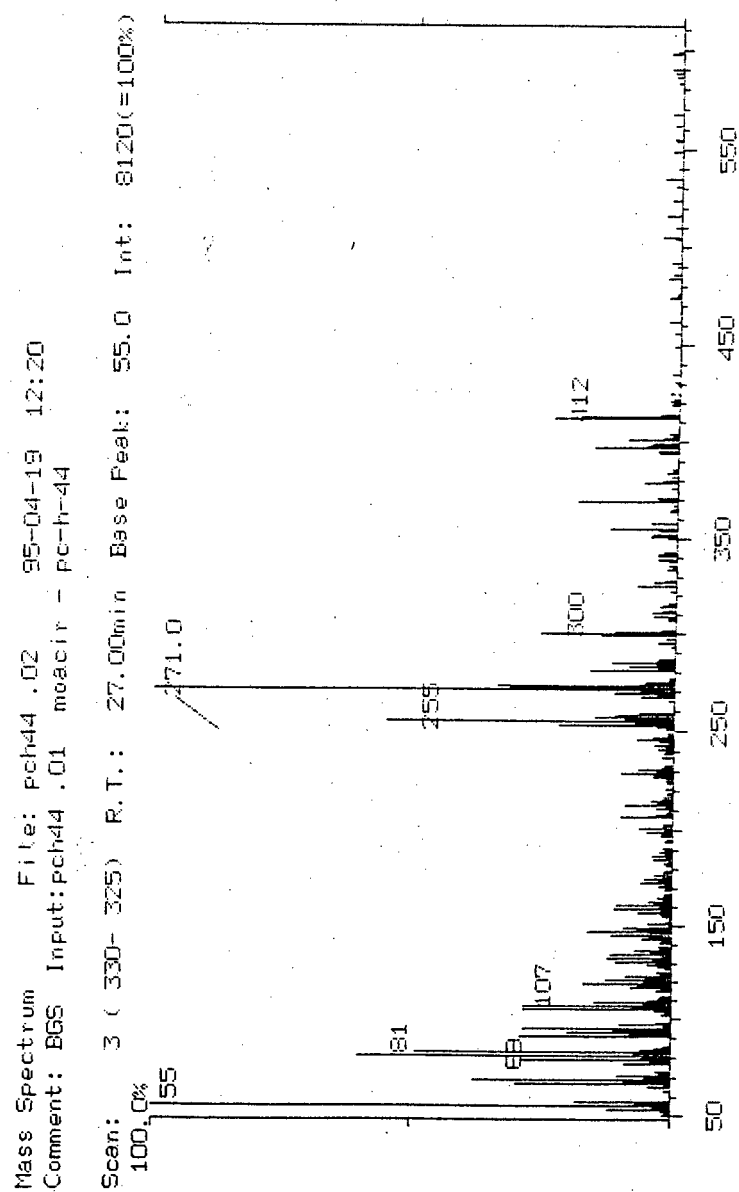


FIGURA-19: Espectro de Massas (70 eV) do Spinasterol (5)

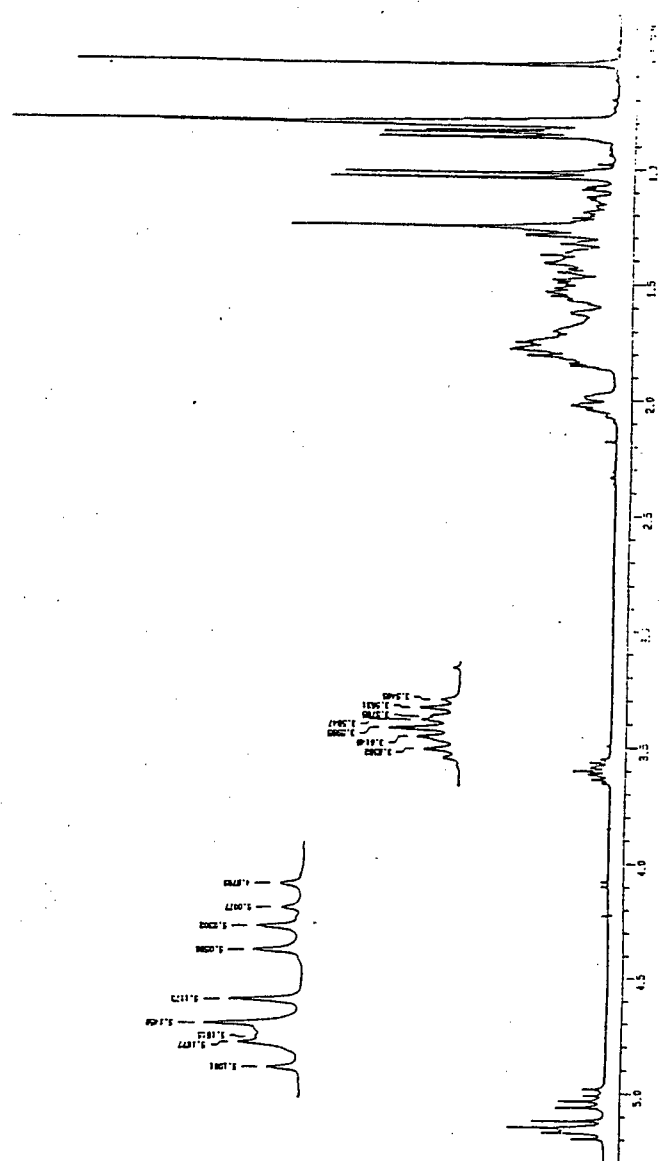


FIGURA - 20: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) do Spinasterol (5)

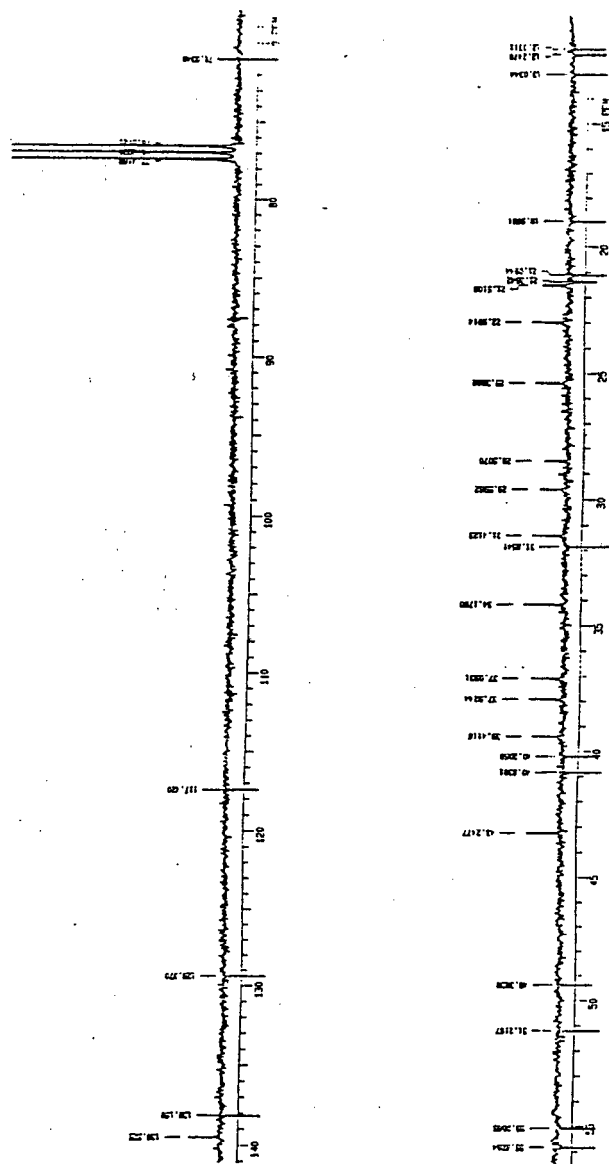


FIGURA - 21: Espectro RMN ^{13}C /Appt (CD_3OD , 75 MHz) do Spinaferol (**5**)

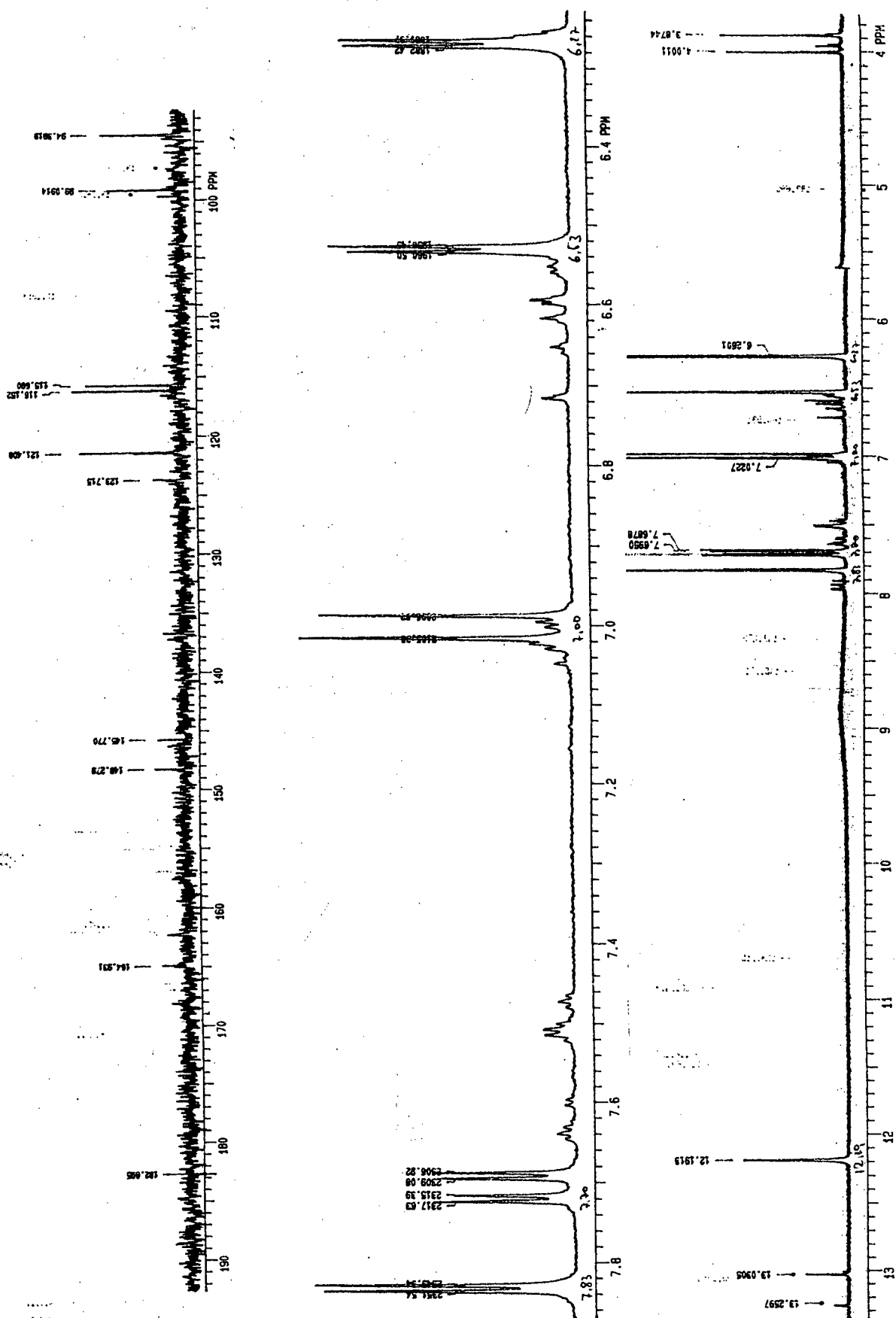


FIGURA-22: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) e FIGURA-23: Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD , 75 MHz) da Quercetina (6)

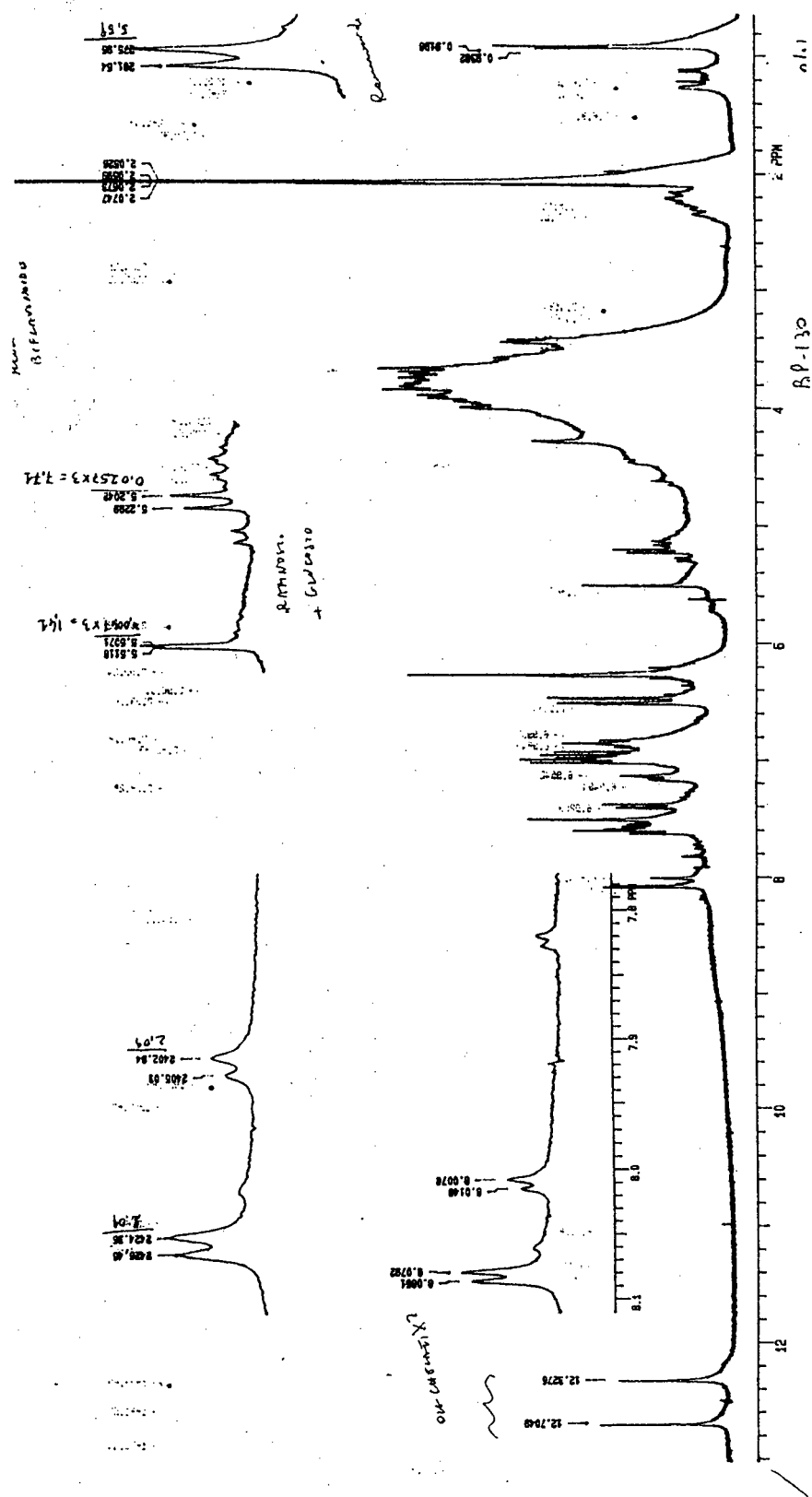


FIGURA- 24: Espectro de NMR ^1H (CD_3OD 300 MHz) da mistura Quercetina -3-O-Ranminosídio **7** e Quercetina-3-O-Glicosídeo (**8**)

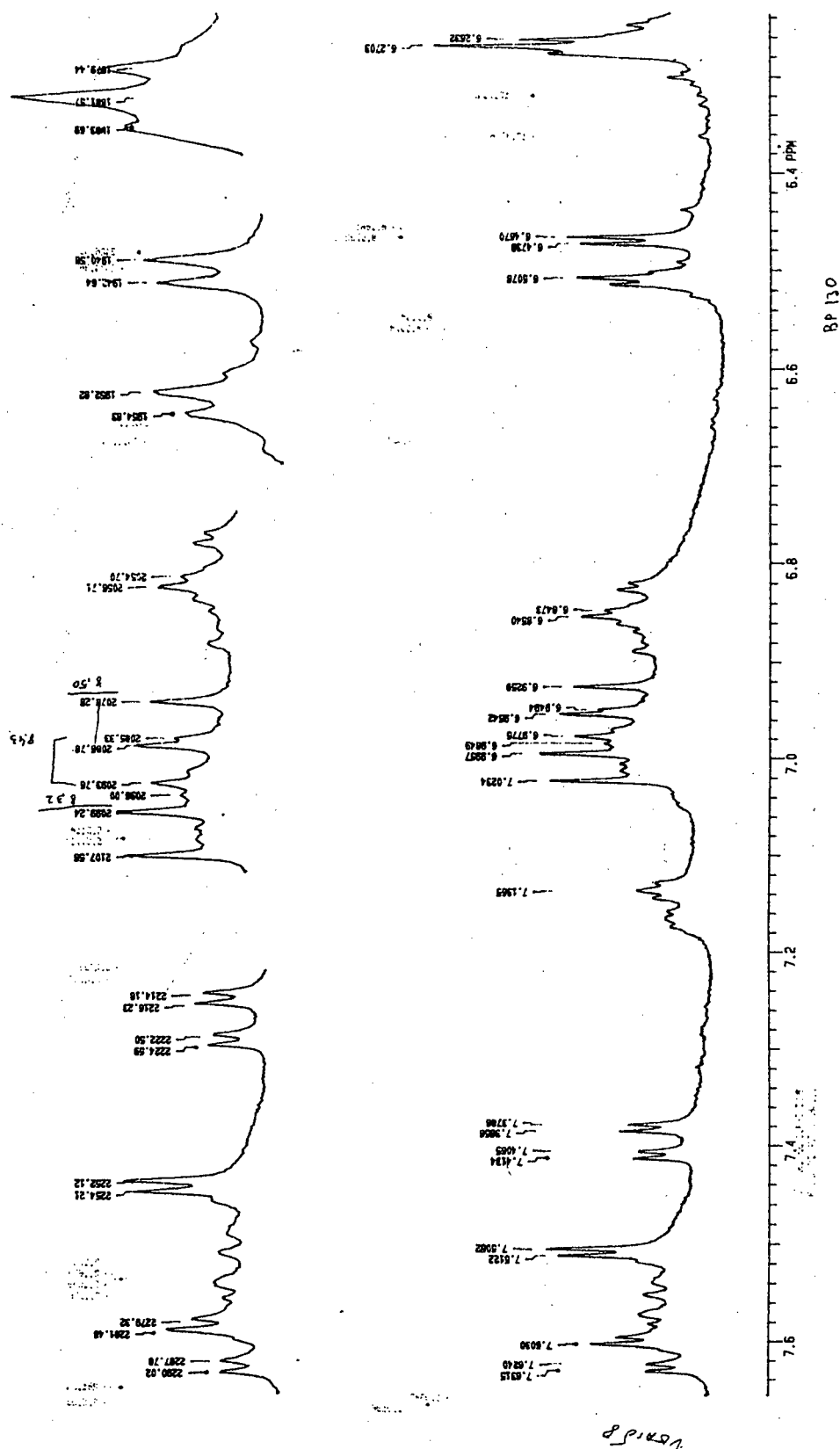


FIGURA- 25: Espectro de NMR ^1H (Expandido) da mistura Quercetina -3-O-Ranminosido (7) e Quercetina-3-O-Glicosido (8)

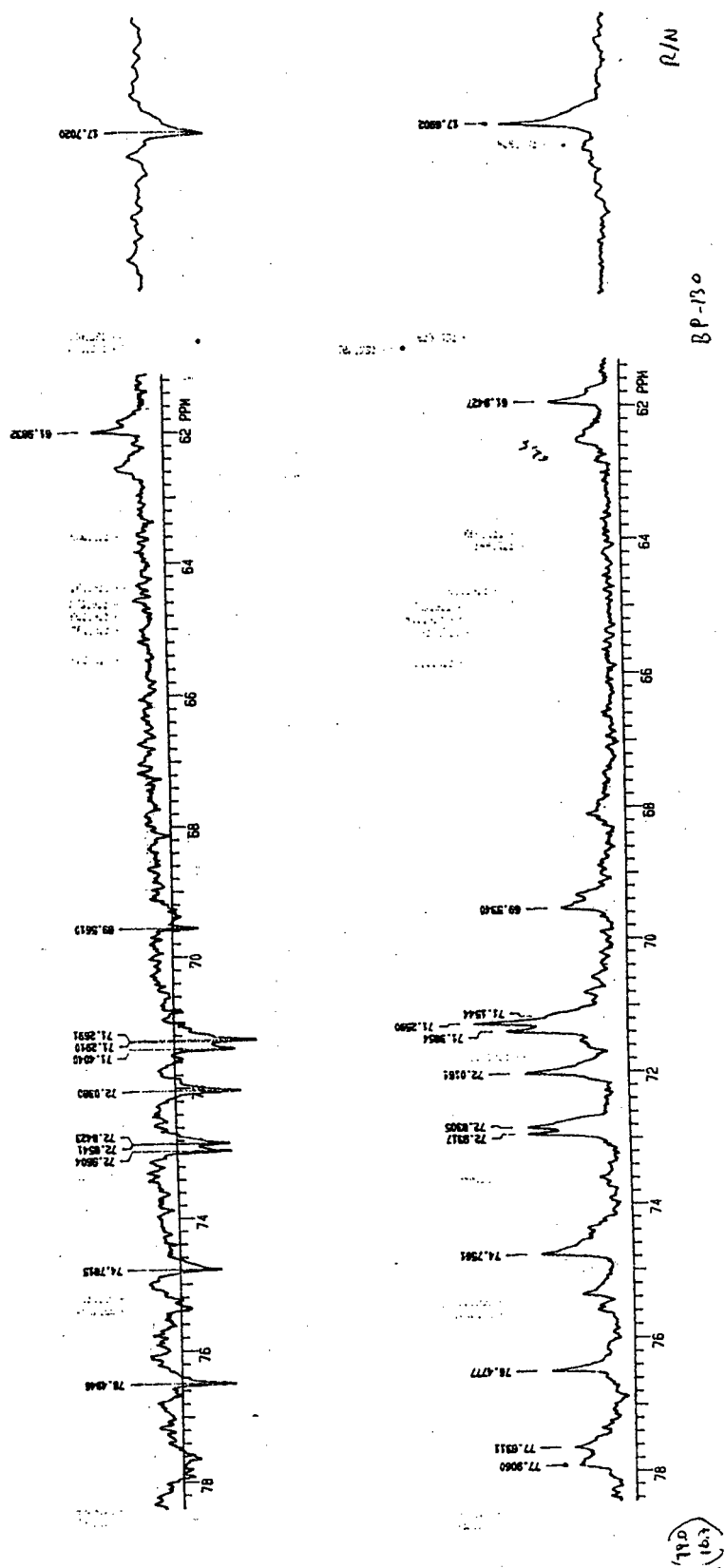


FIGURA - 27: Espectro de NMR $^{13}\text{C}/\text{APT}$ (10-80 ppm) da mistura Quercetina -3-O-Ranminosido (7) e Quercetina-3-O-Glicosido (8)

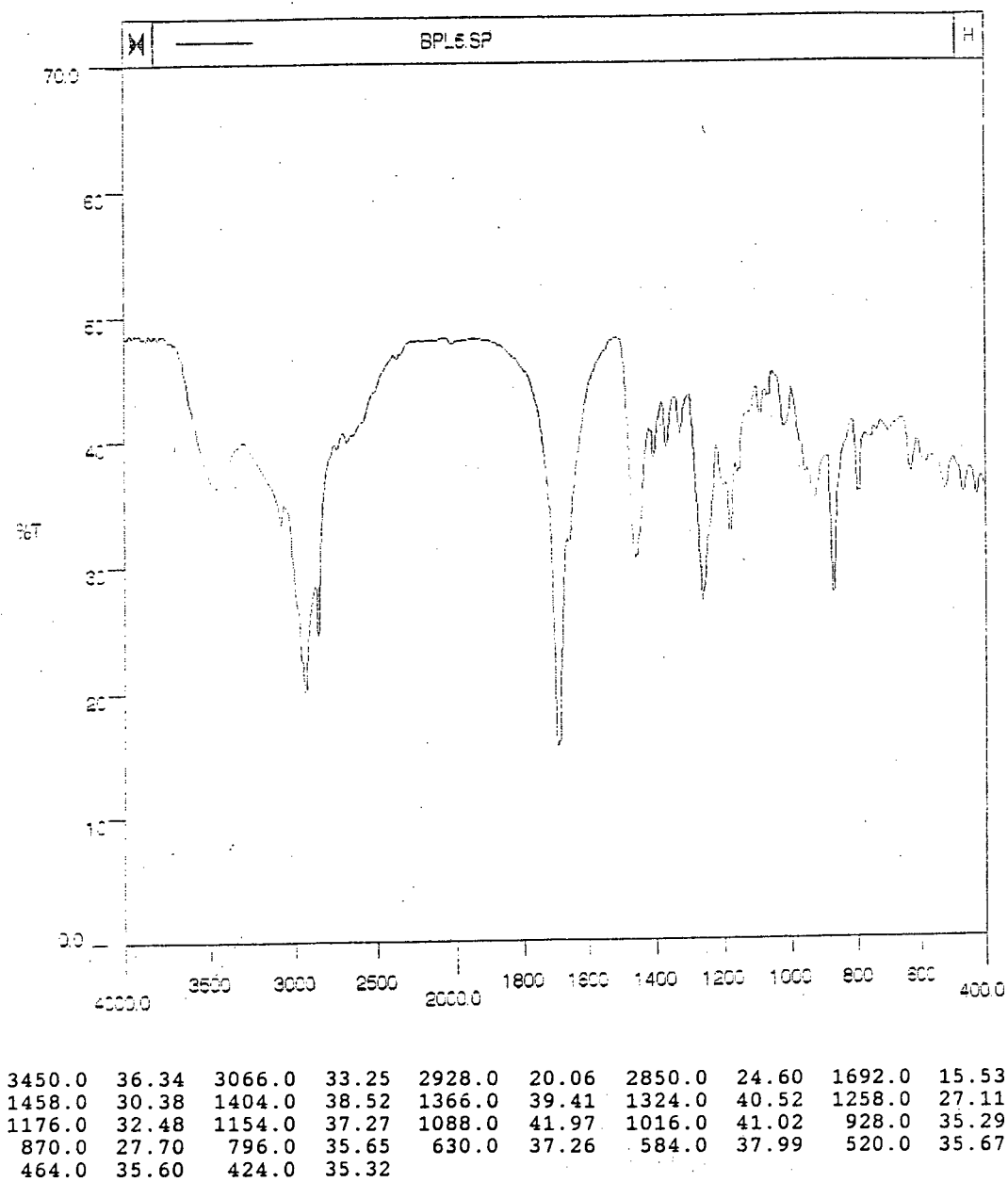


FIGURA - 29: Espectro de Infravermelho do Ácido Kaurenóico (9) em KBr

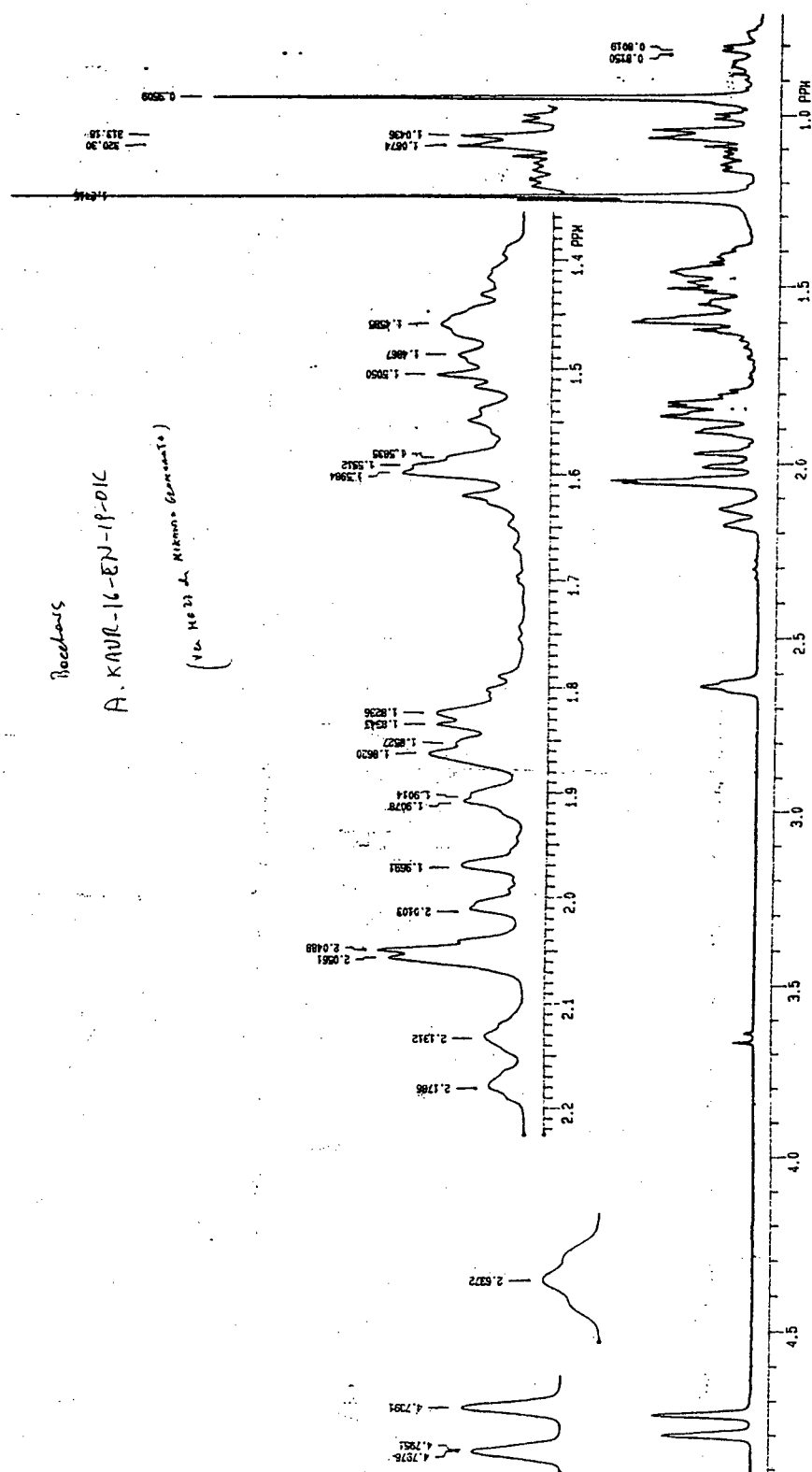


FIGURA - 30: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) do Ácido Kaurenóico (9)

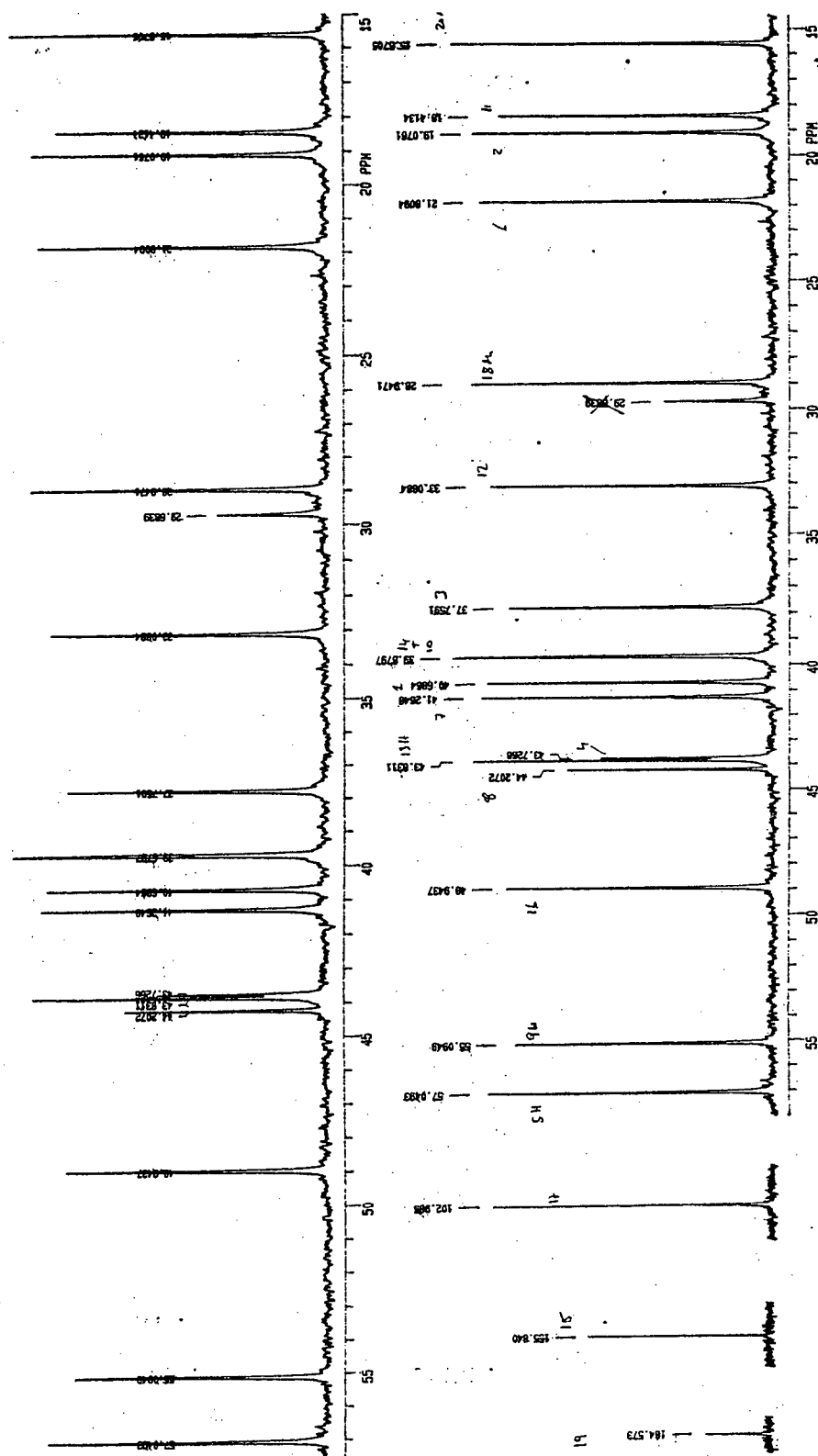


FIGURA - 31: Espectro RMN ^{13}C /APT (CD_3OD , 75 MHz) do Ácido Kaurenóico (9)

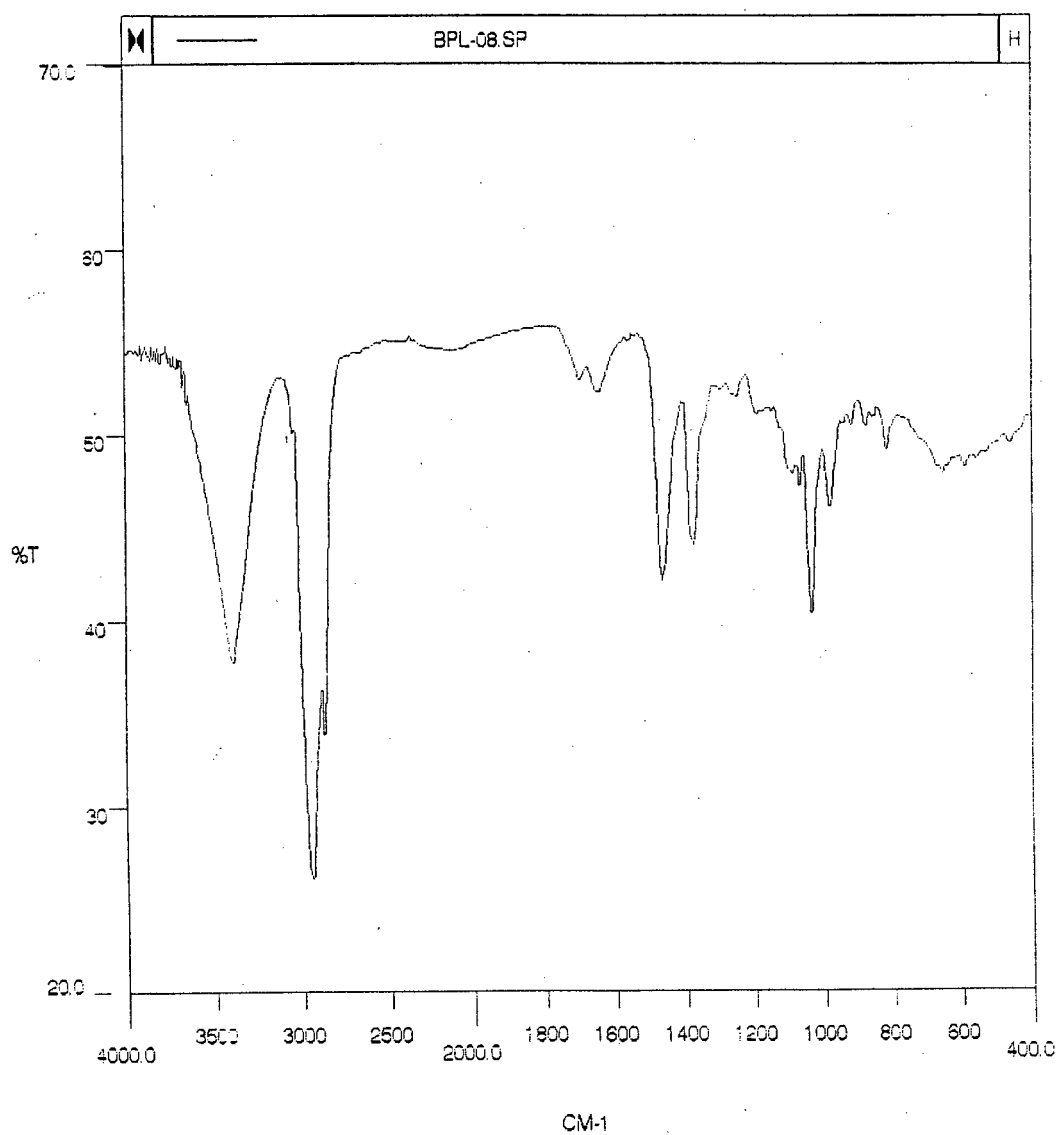


FIGURA - 32: Espectro de Infravermelho do Baurenol (10) em KBr

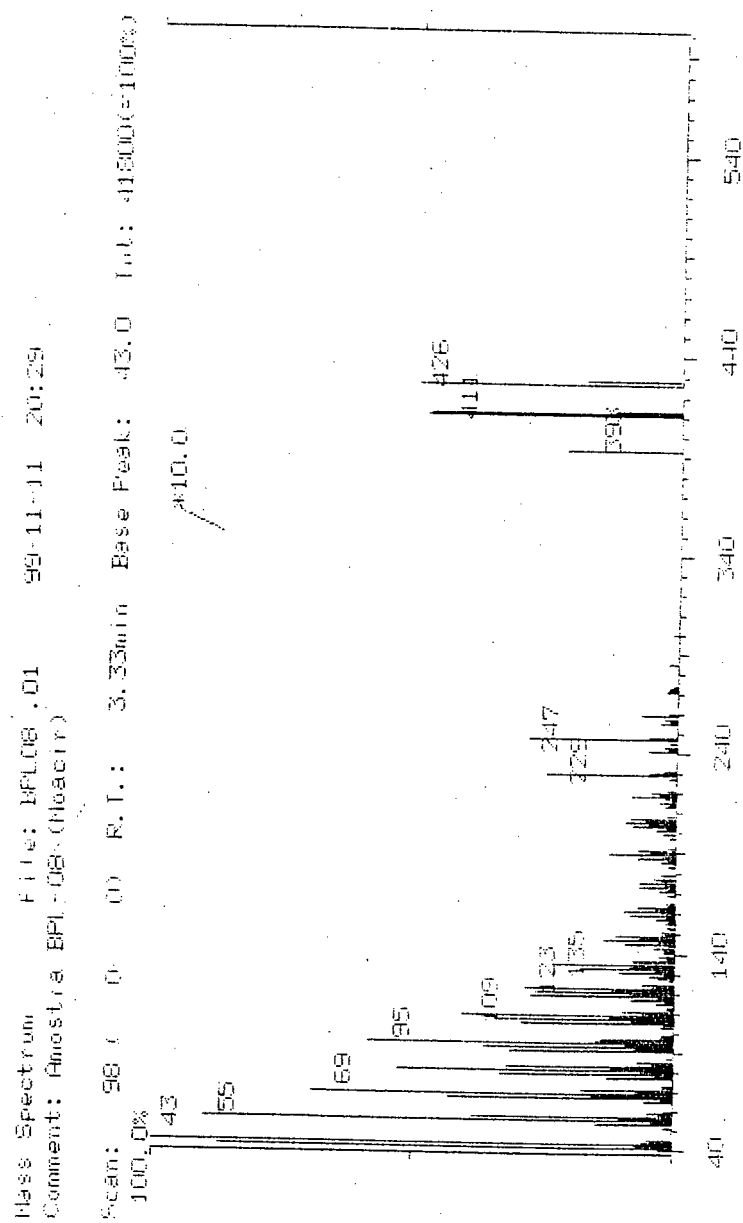


FIGURA - 33: Espectro de massas (70 eV) do Baurenol (10)

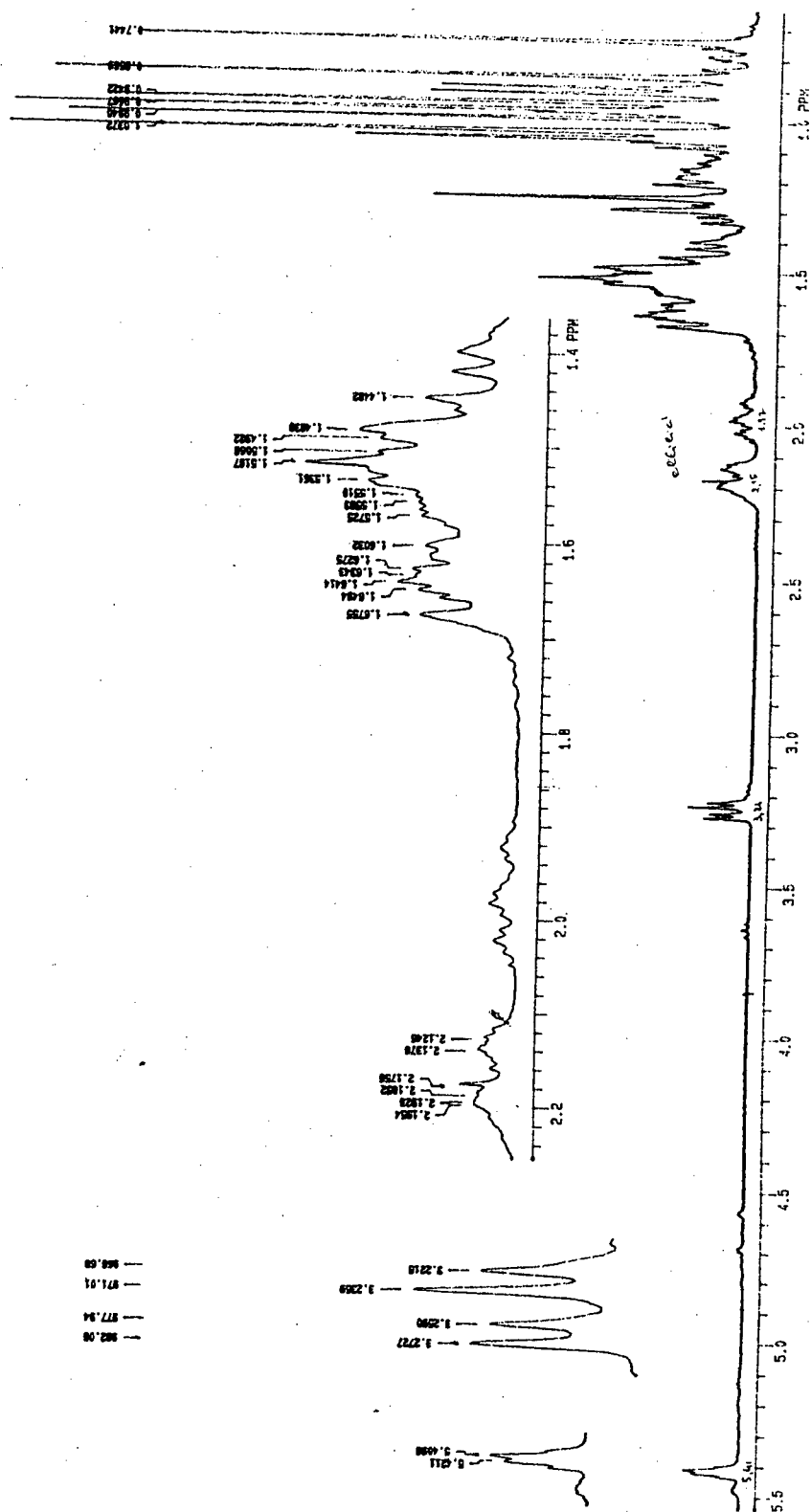


FIGURA- 34: Espectro RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) do Baurenol (10)

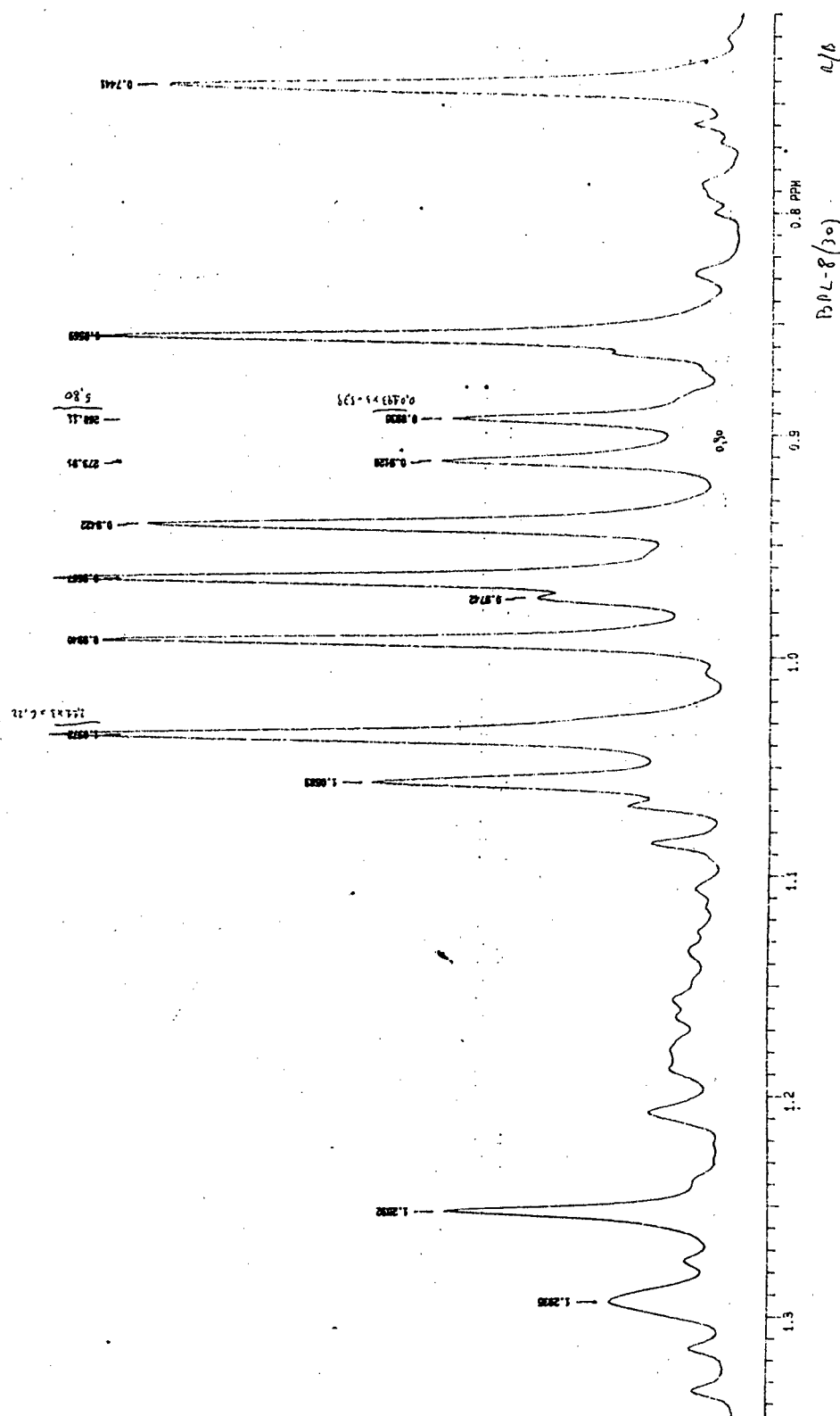


FIGURA - 35: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) do Baurenol (10), na região de 0,5 - 1,4 ppm

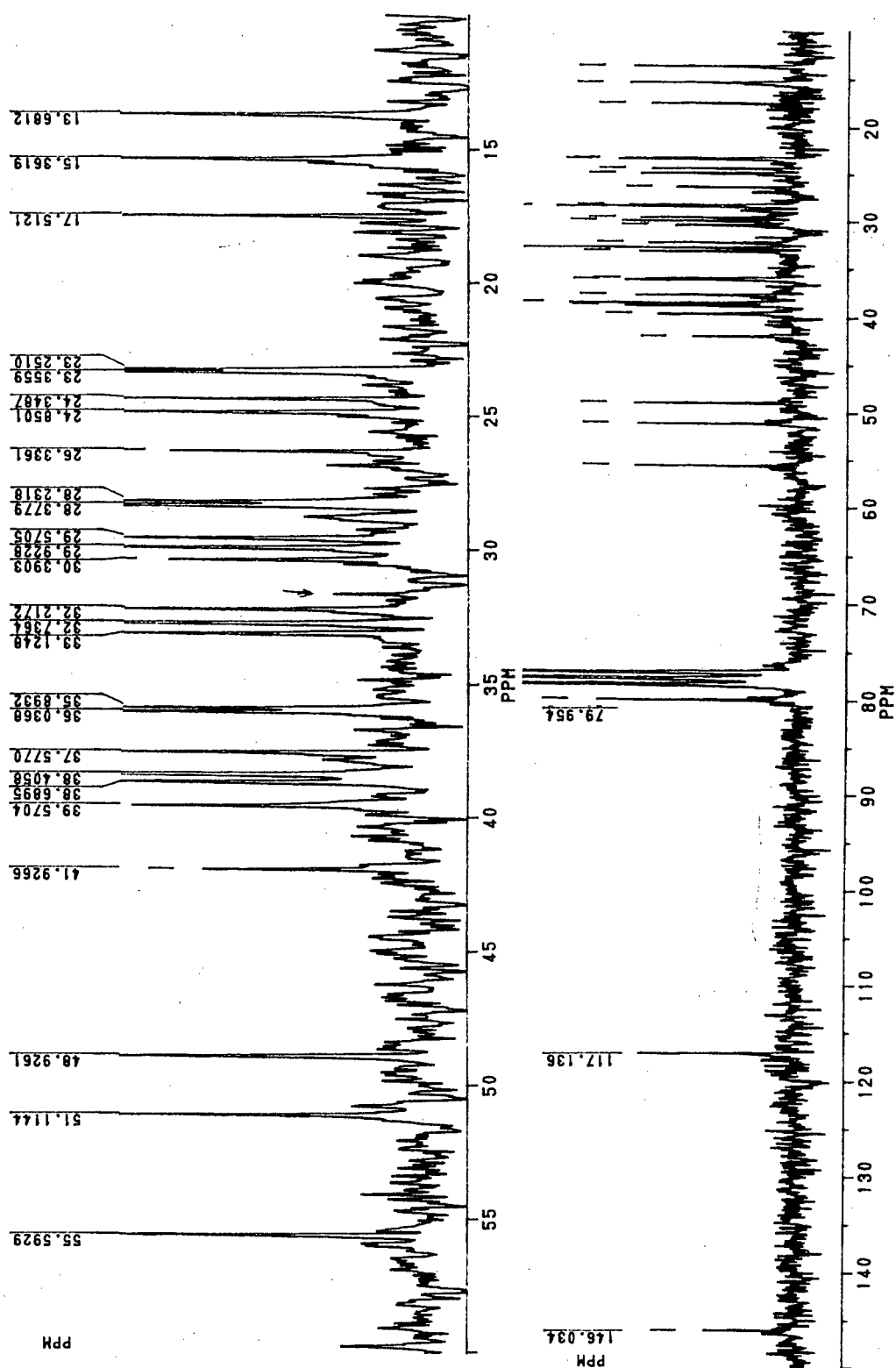
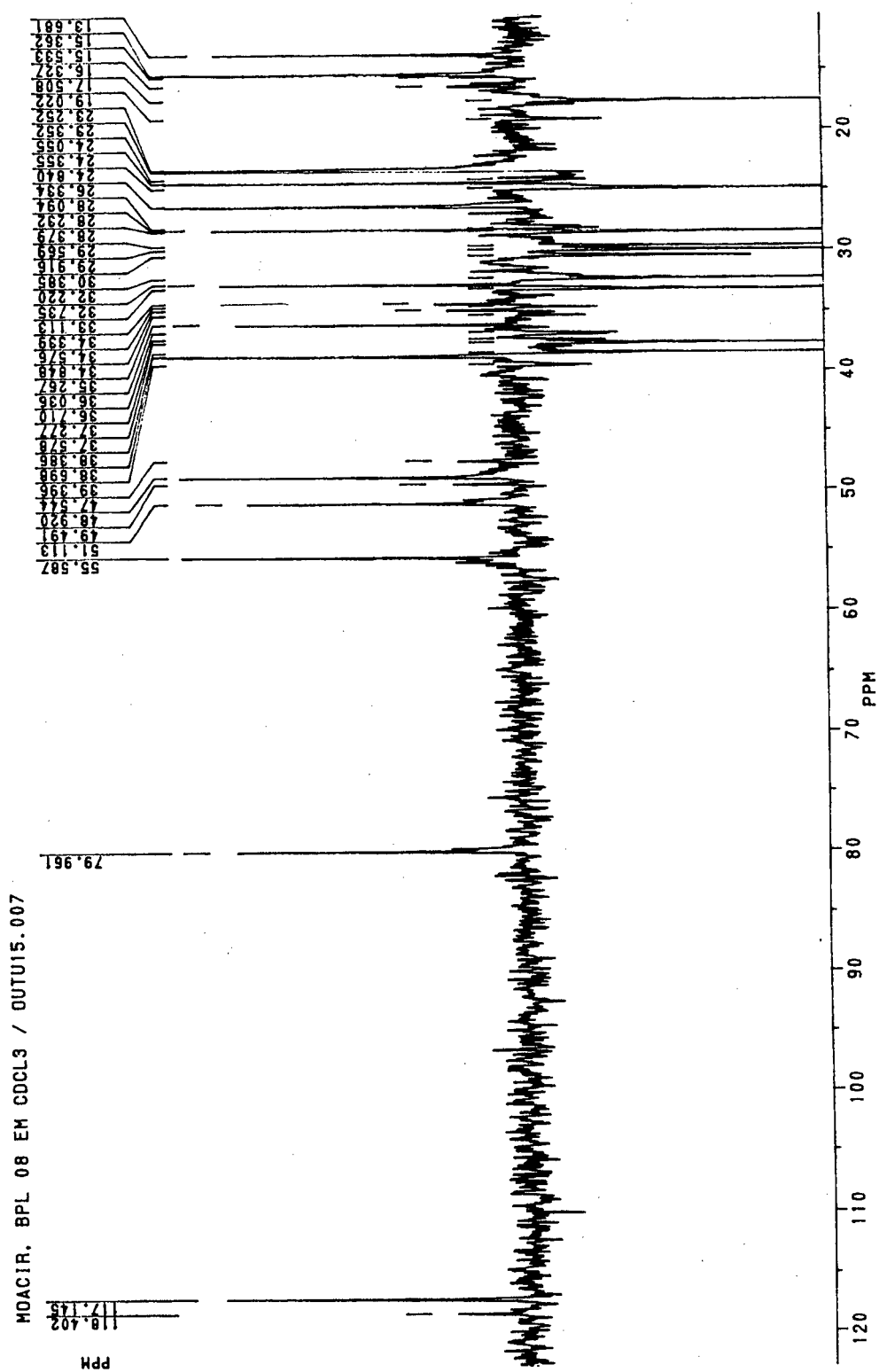


FIGURA- 36: Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD , 50 MHz) do Baurenol (10)

FIGURA -37: Espectro DEPT (CD₃OD, 50MHz) do Baurenol (10)

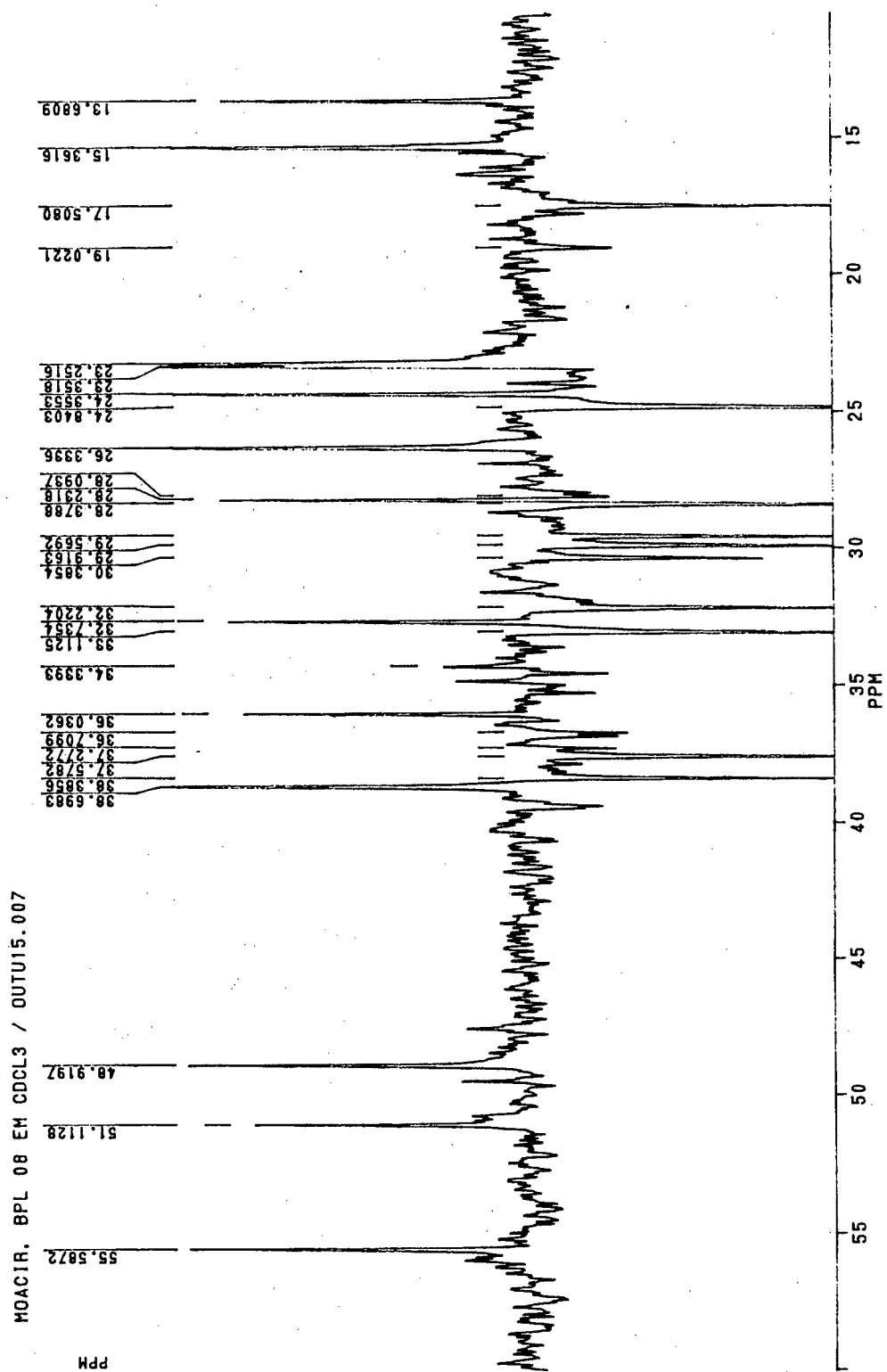


FIGURA - 38: Espectro DEPT (CD_3OD , 75 MHz) do Burenol (10), na região de 13-56 ppm

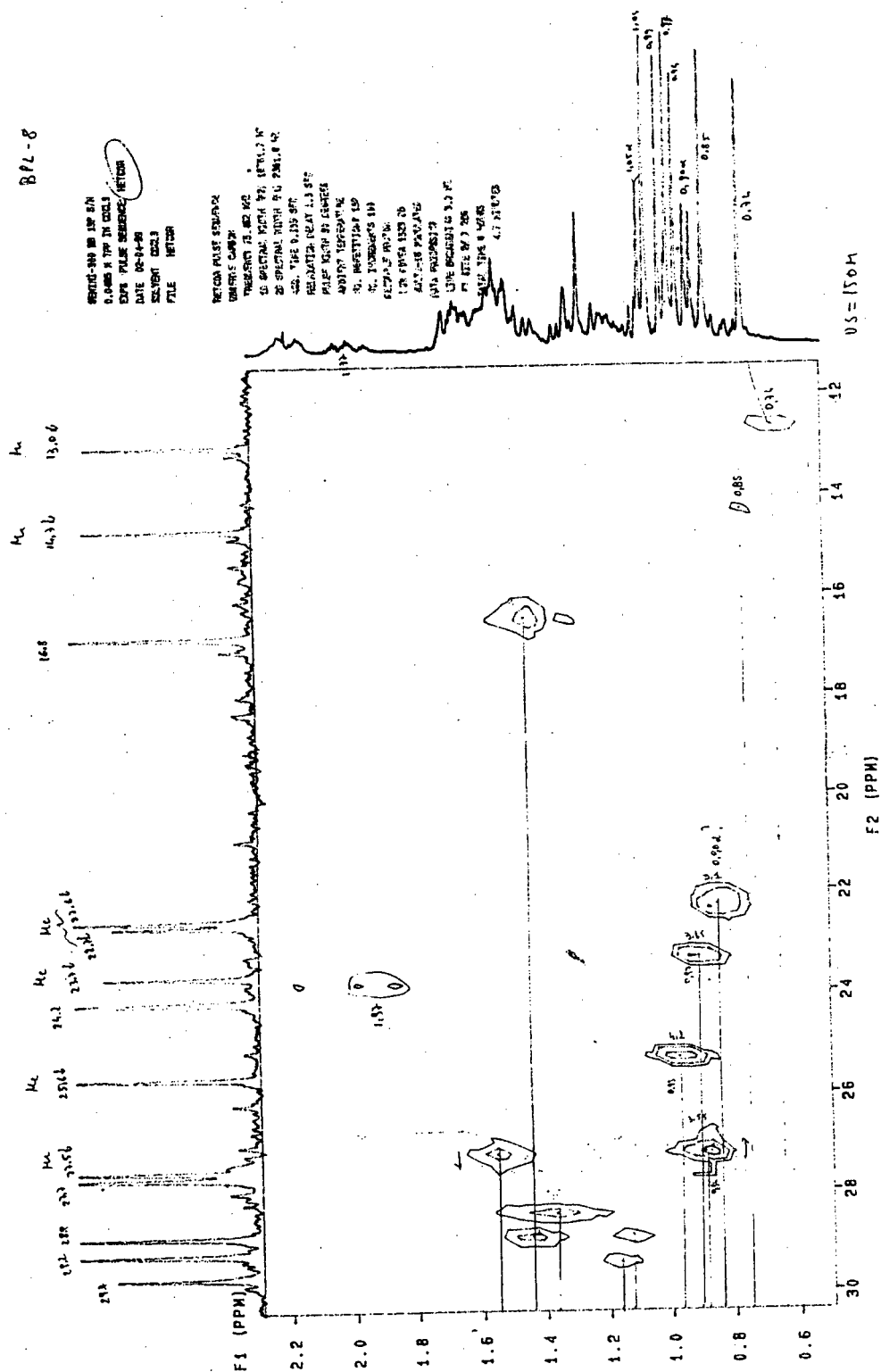


FIGURA - 39 : Espectro de RMN 2D HETCOR (CD₃OD, 75 MHz) do Baurenol (10), na região de 10-30 ppm

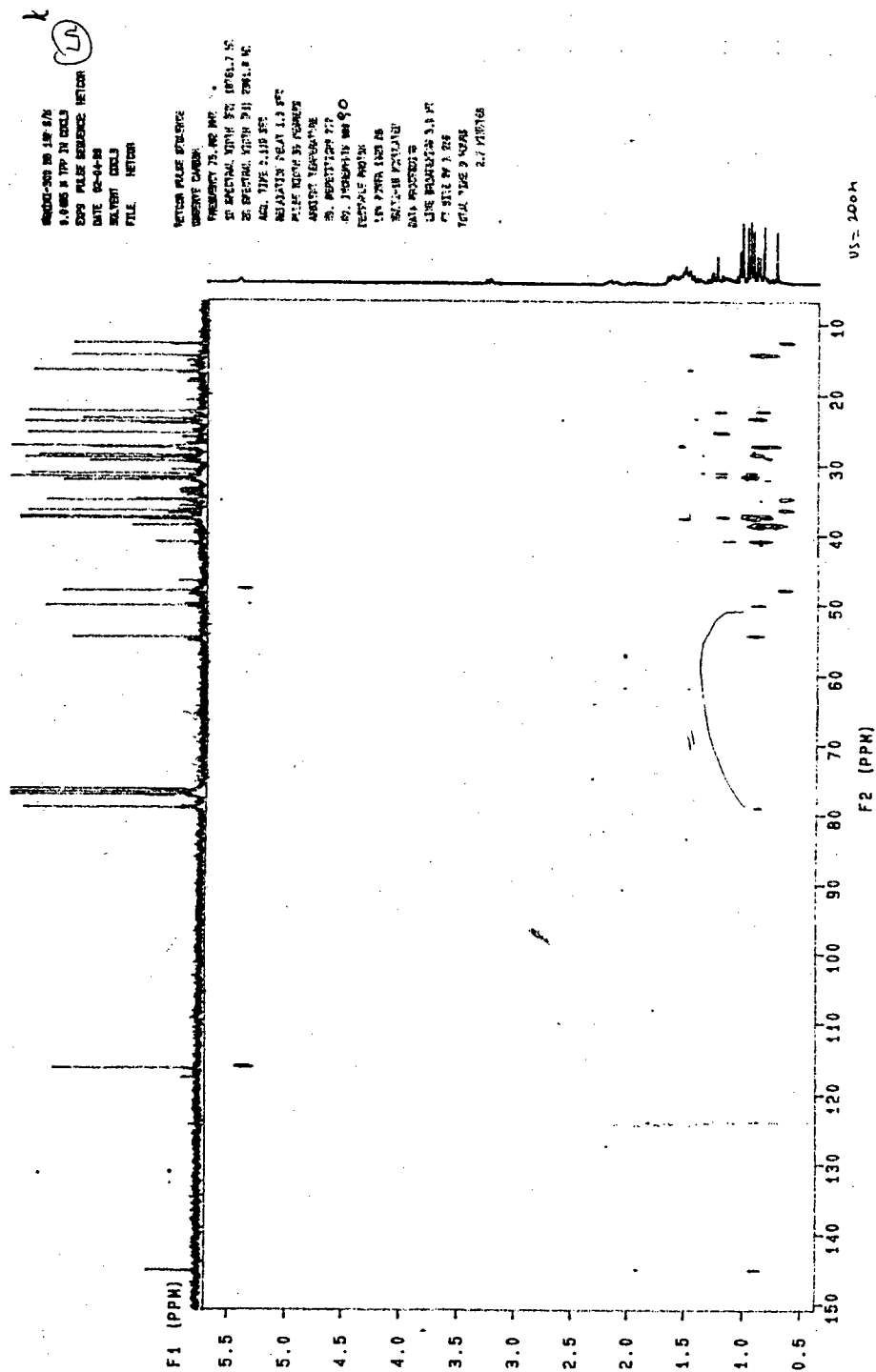
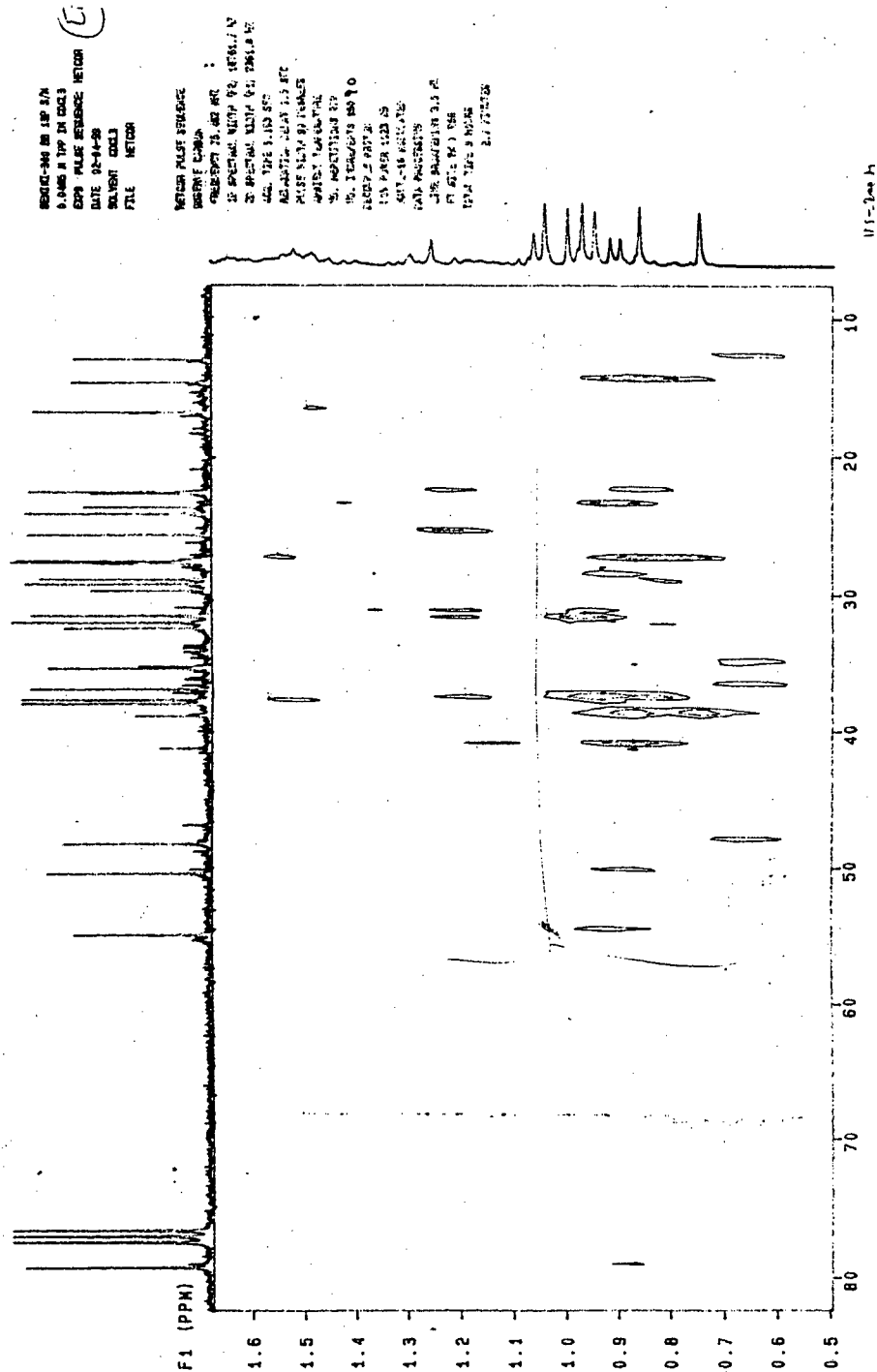


FIGURA-41: Espectro RMN 2D HETCOR-LONG RANG (CD₃OD, 75 MHz) do Baurenol (10)


 FIGURA - 42: Espectro RMN 2D HETCOR-LONG RANG (CD₃OD, 75 MHz) do Baurenoi (10) na região 10-80 ppm

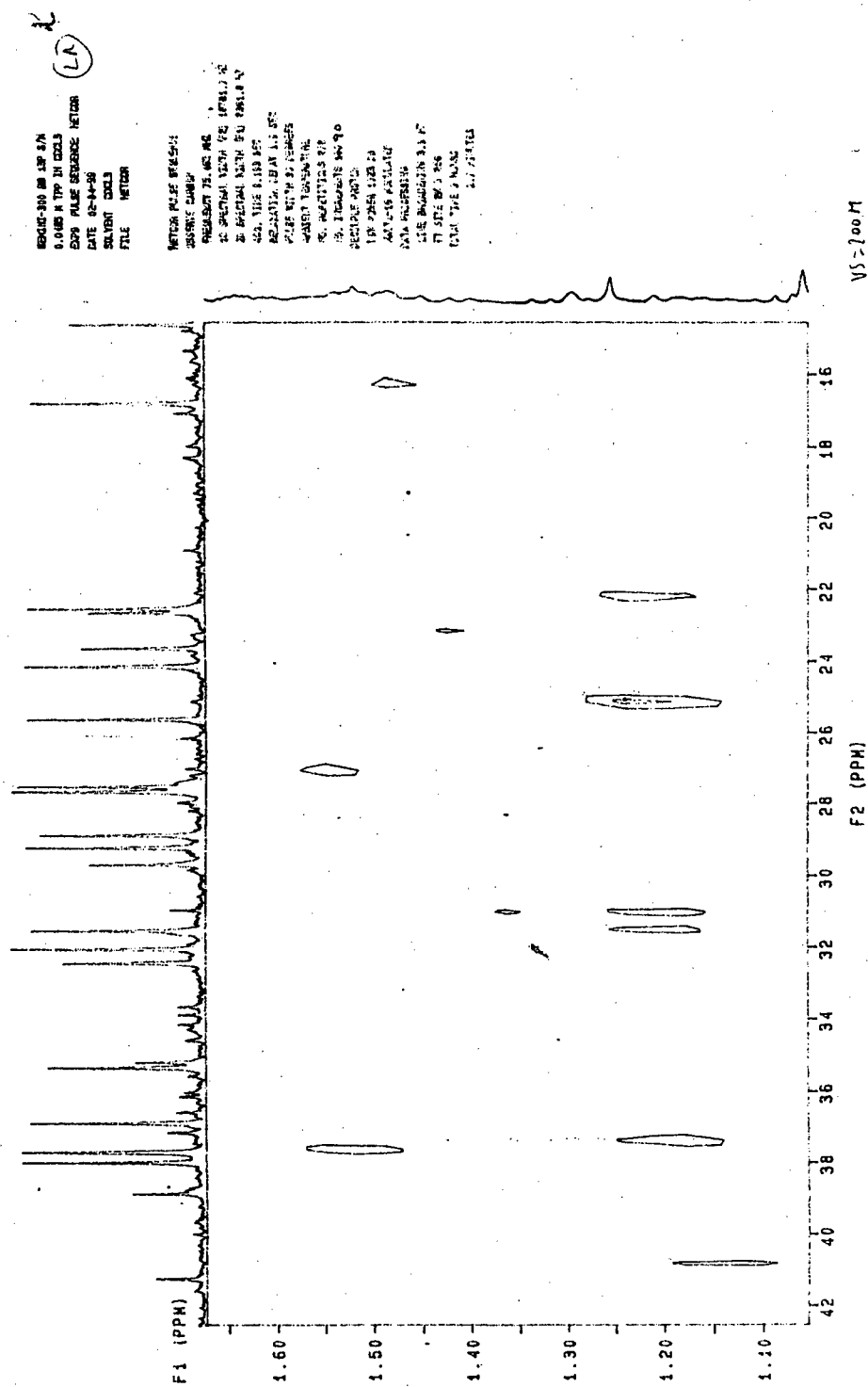


FIGURA - 43: Espectro RMN 2D HETCOR-LONG RANG (CD₃OD, 75 MHz) de Baurenol (10) na região 10-42

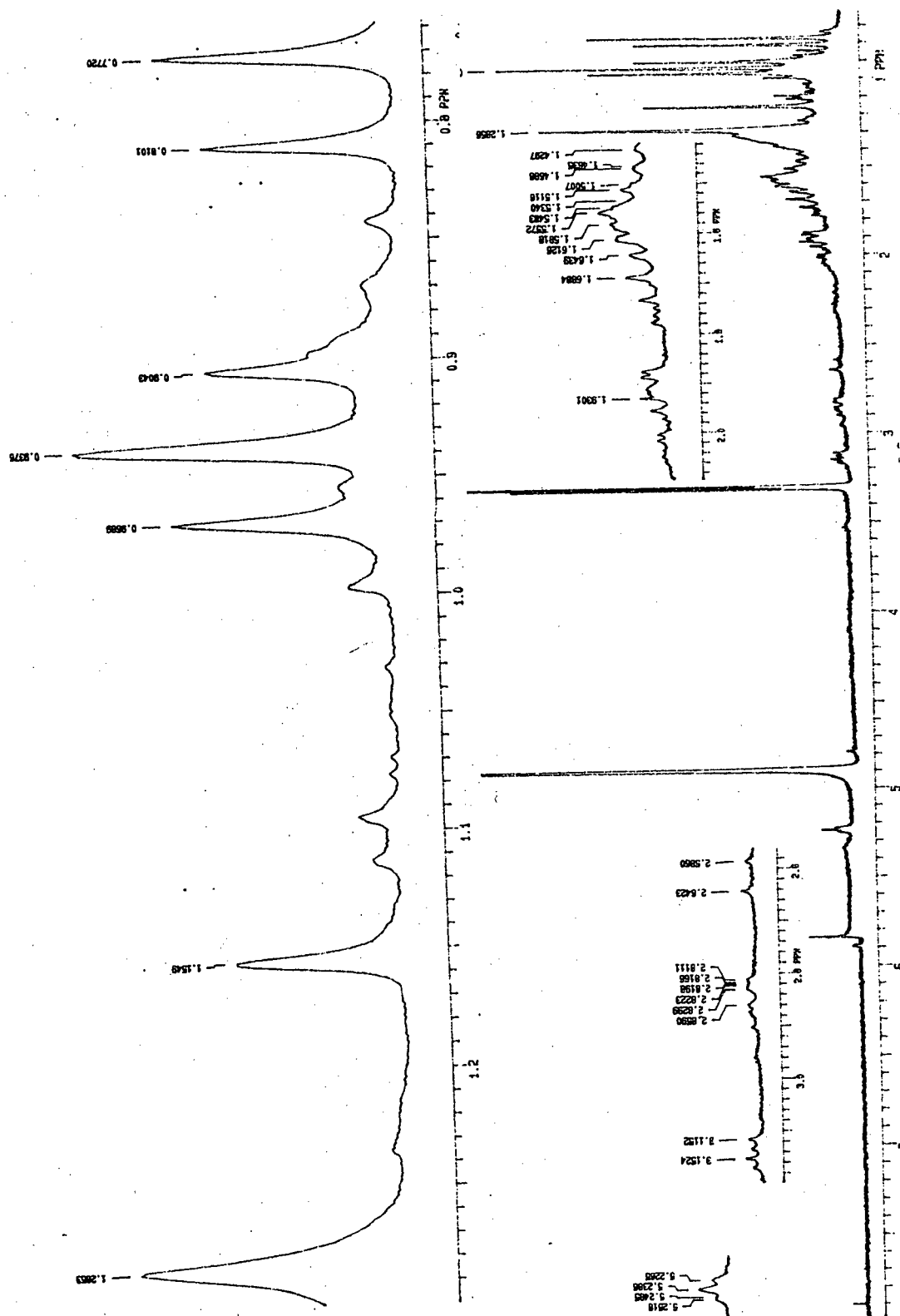


FIGURA - 44: Espectro de NMR ^1H (CDCl_3 300 MHz) da α -amirina (11)

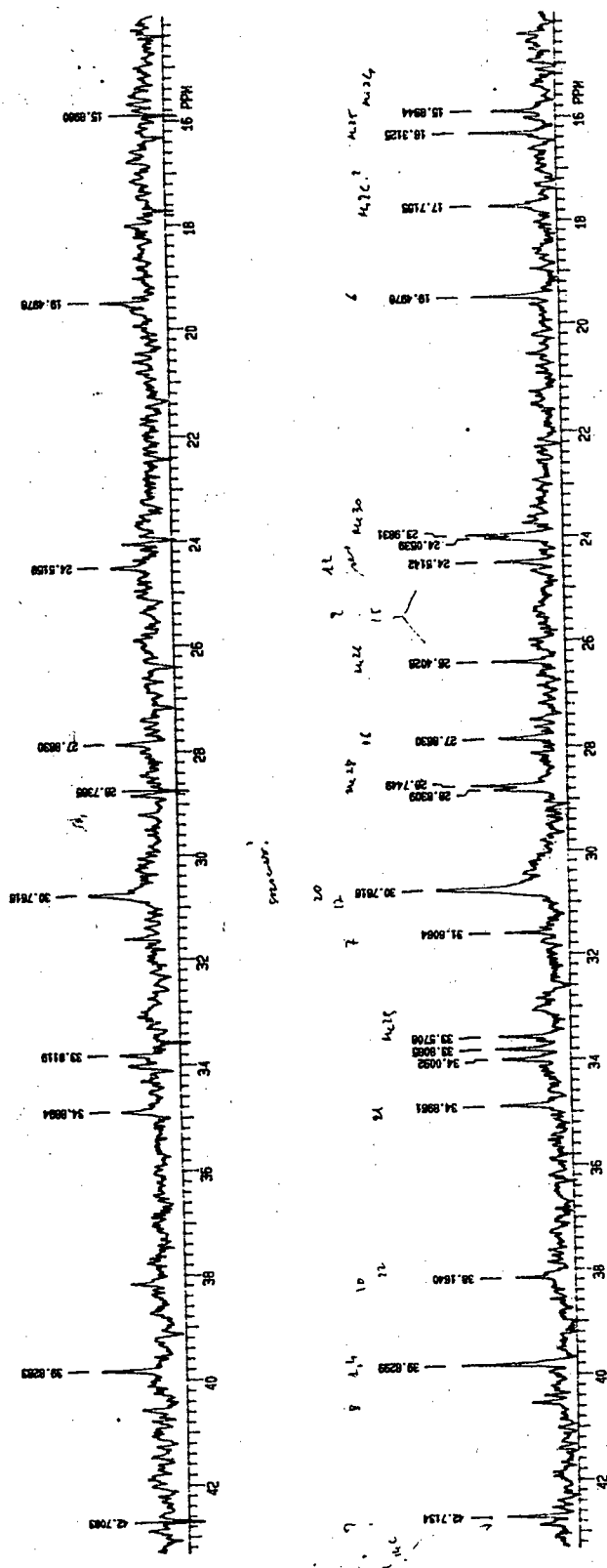


FIGURA - 45: Espectro de NMR ^{13}C /APT (CDCl_3 75 MHz) da α -amirina (11)

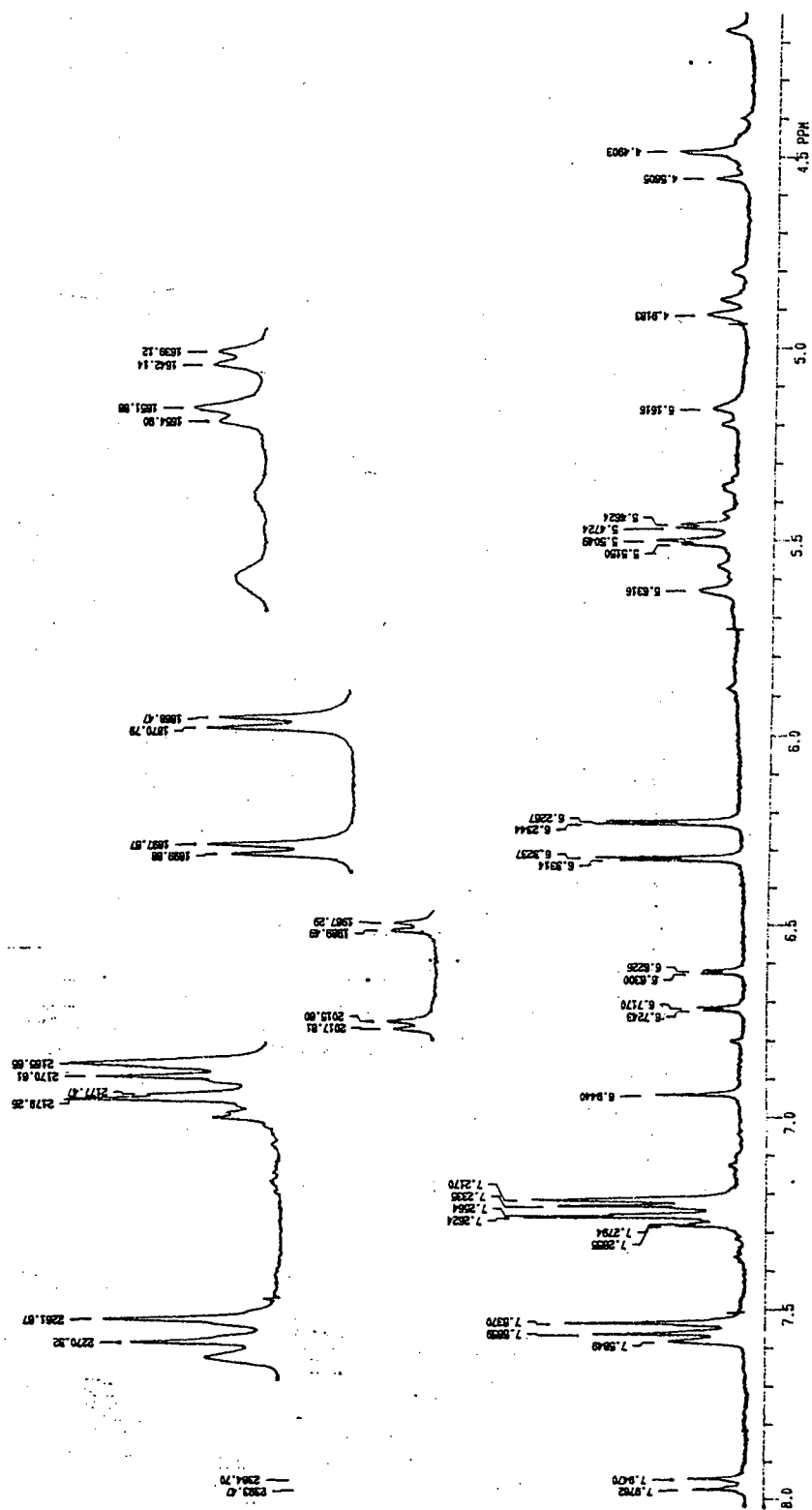


FIGURA - 47: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) da Naringenina-7-metoxi (13)

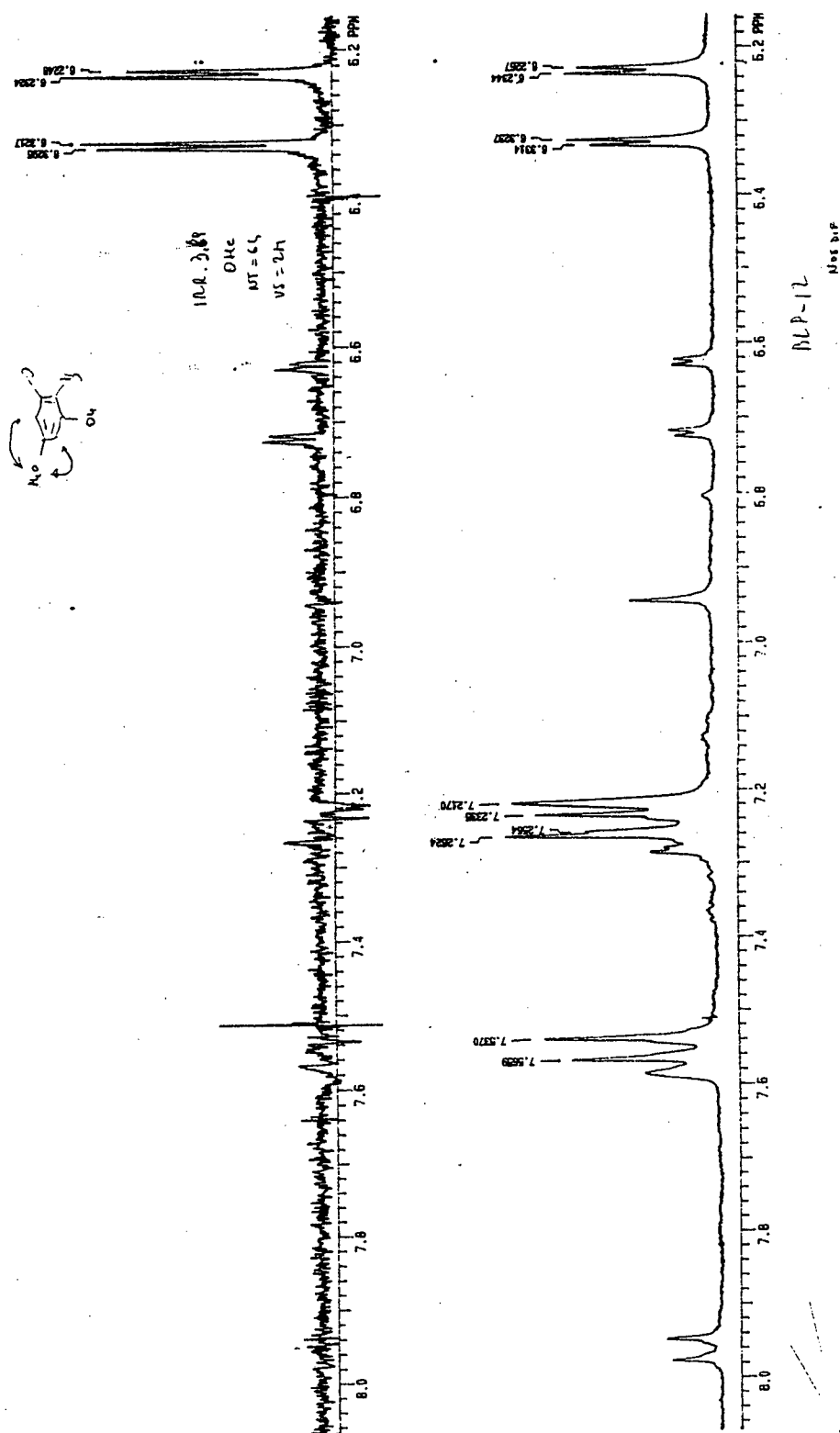


FIGURA - 48: Espectro DIFNOE(CDCl_3 , 300 MHz) Irr. 3,69 ppm, de Naringenina-7-metoxi (13)

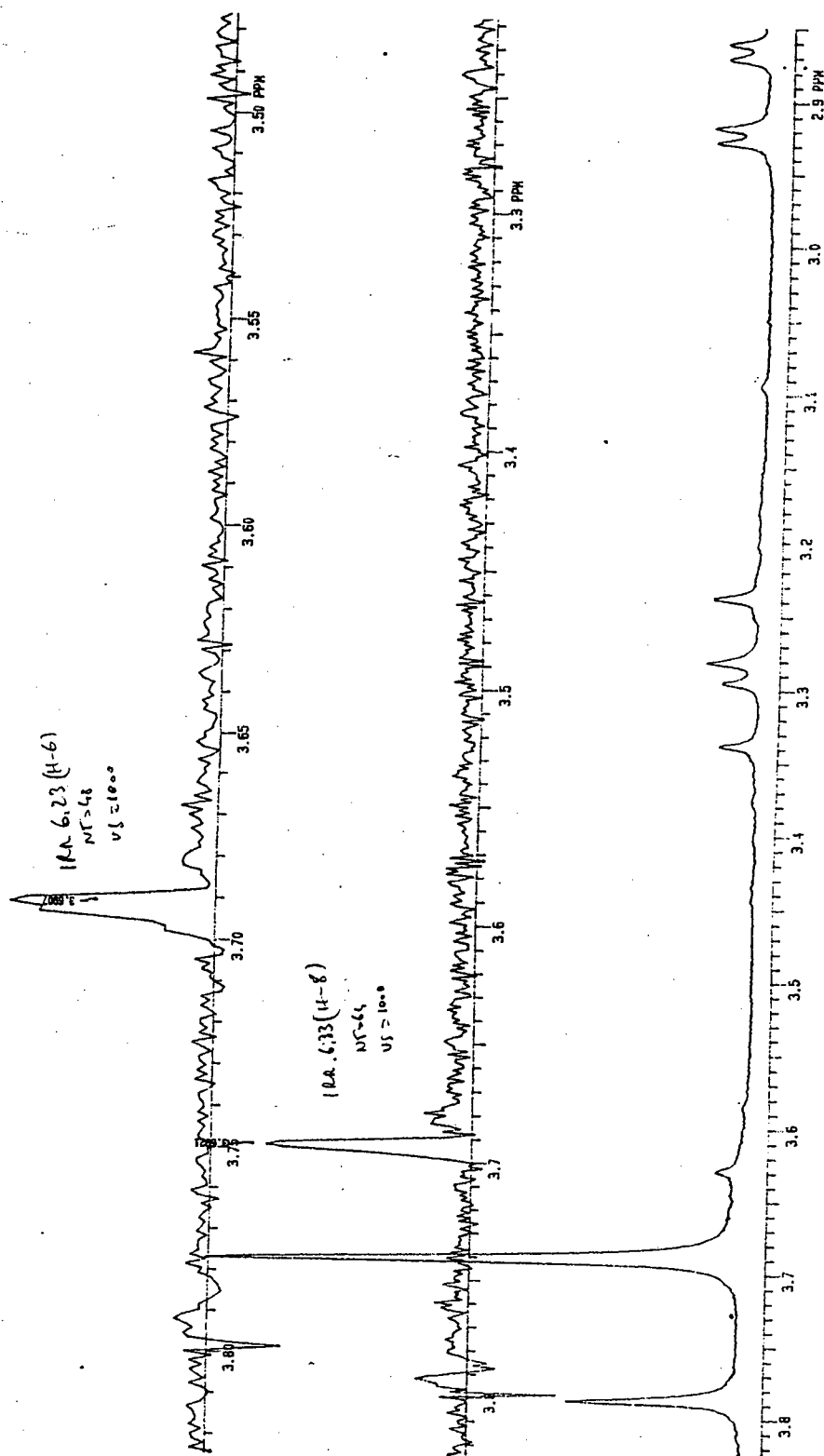


FIGURA- 49: Espectro DIFNOE (CDCl_3 , 300 MHz) Irr. 6,33 ppm, da Naringenina-7-metoxi (13)

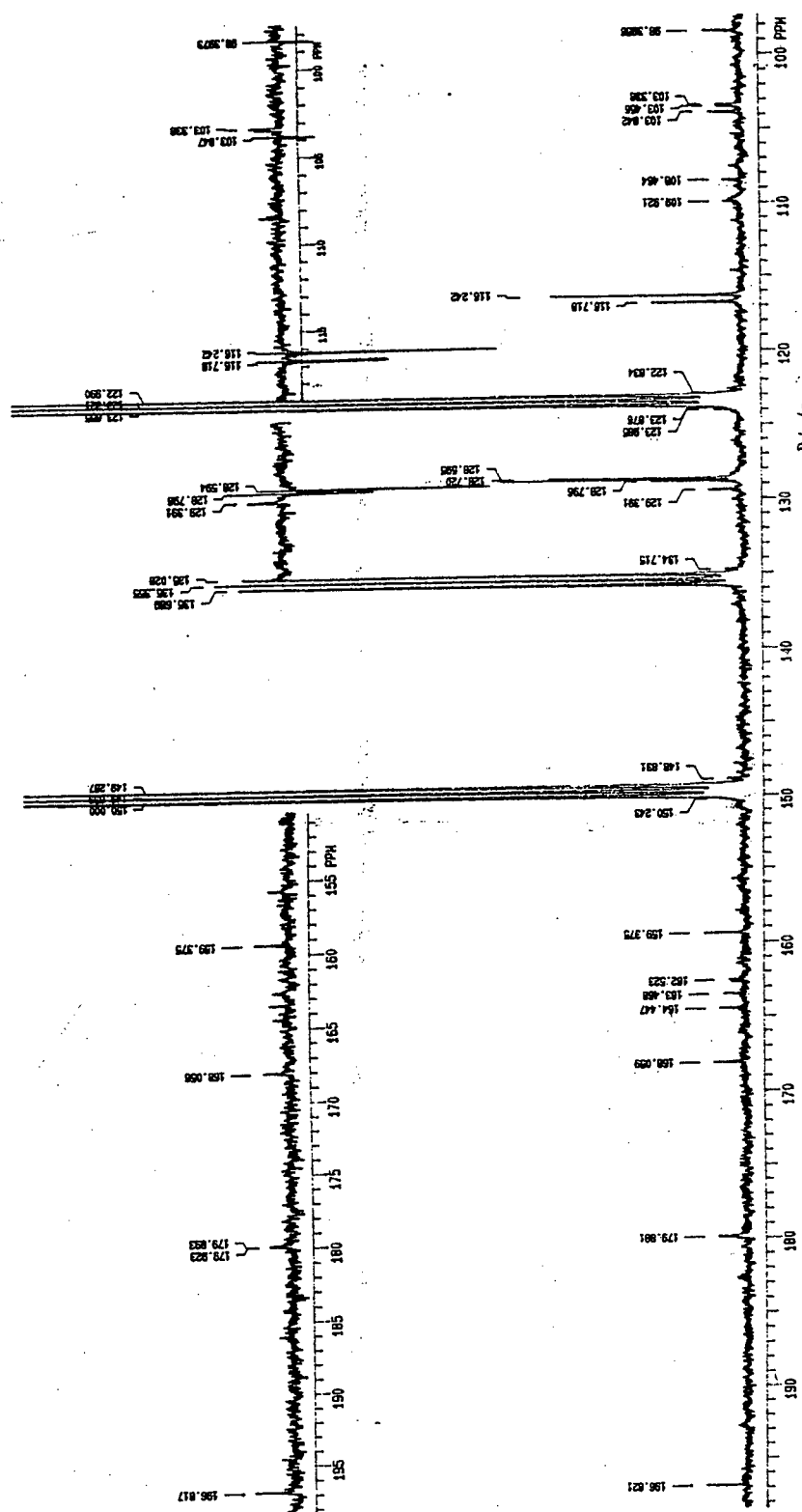


FIGURA - 50 : Espectro NMR ^{13}C /APT (CDCl_3 75 MHz) da Naringenina-7-O-metoxi (13)

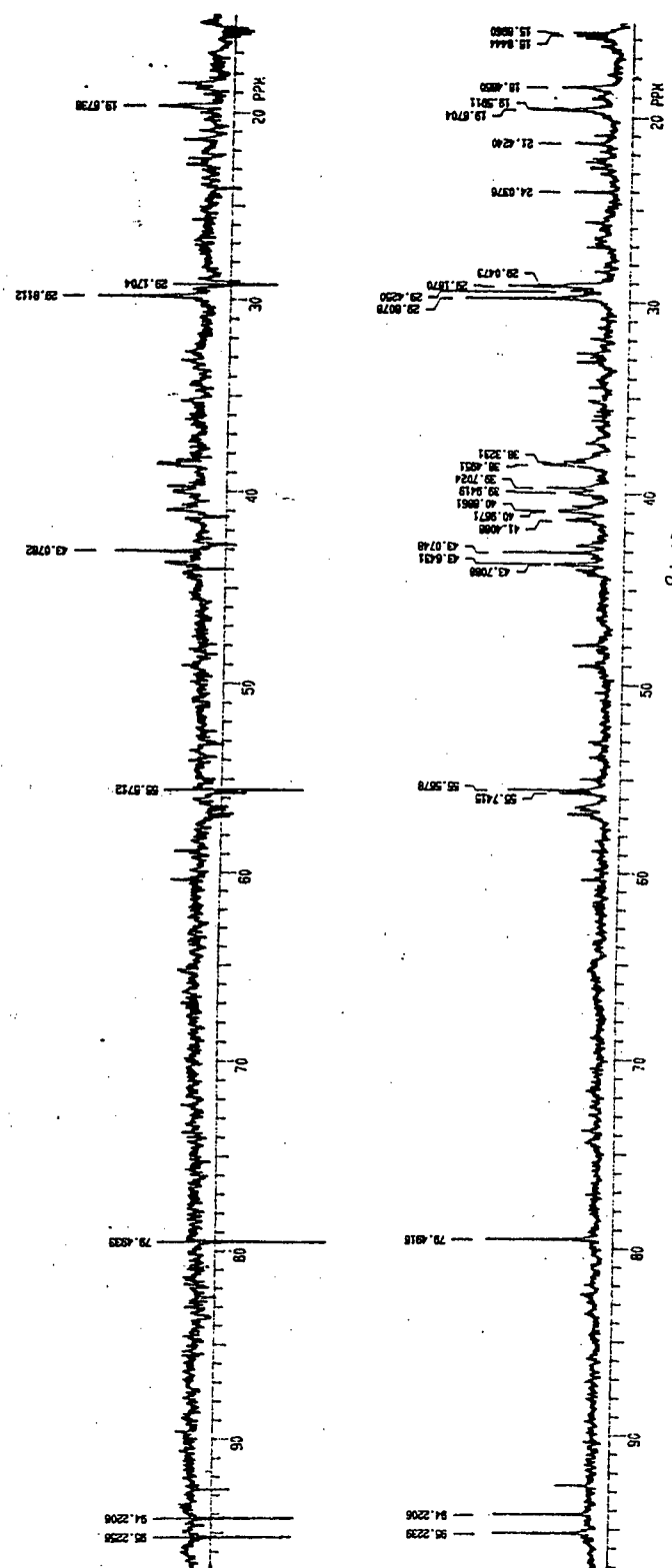


FIGURA - 51 : NMR $^{13}\text{C}/\text{APT}$ (CDCl_3 75 MHz) da Naringenina-7-O-metoxi (**13**) na região de 10 - 100 ppm

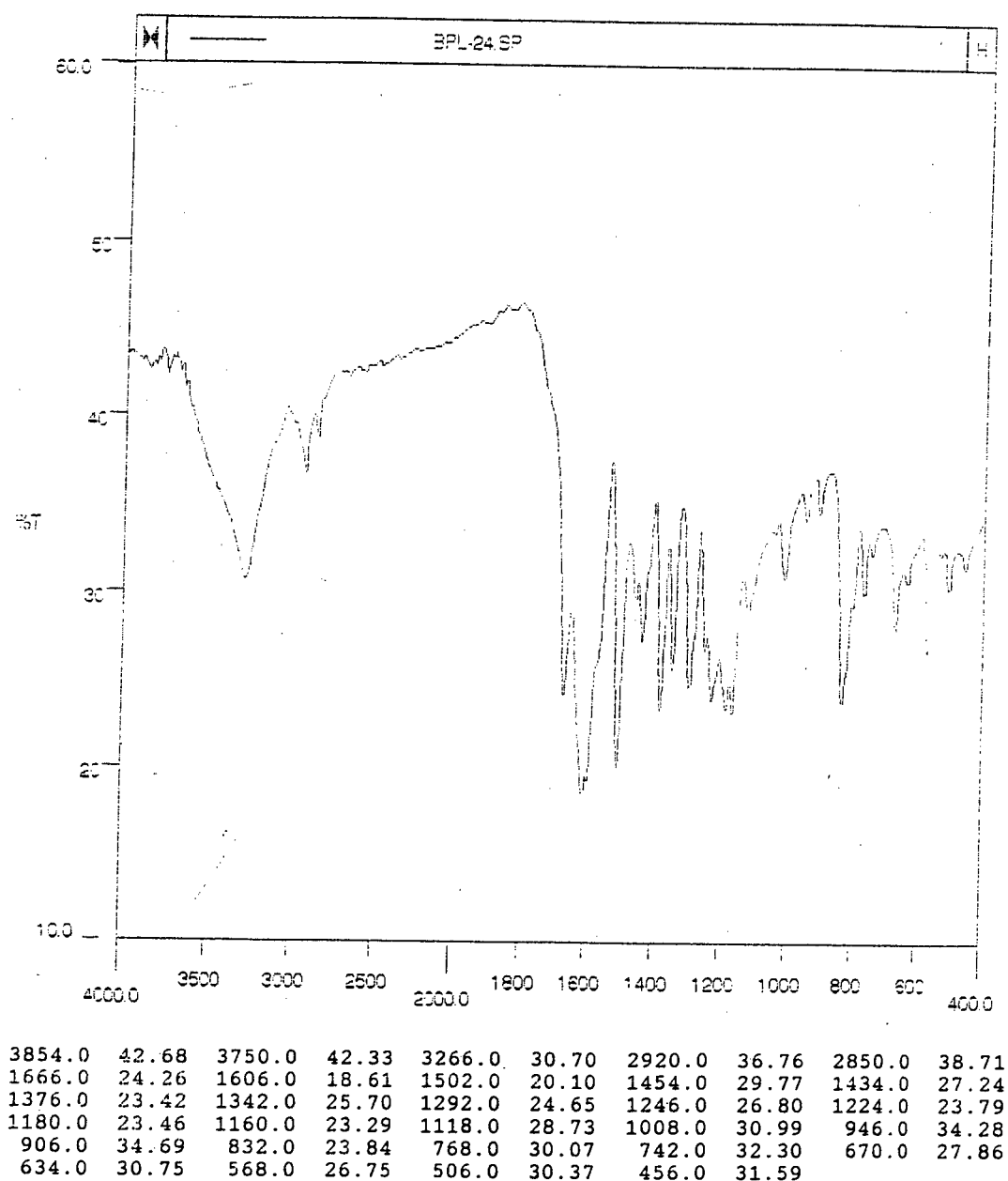


FIGURA - 52 : Espectro de Infravermelho da Apigenina-7-metoxi (5) em KBr

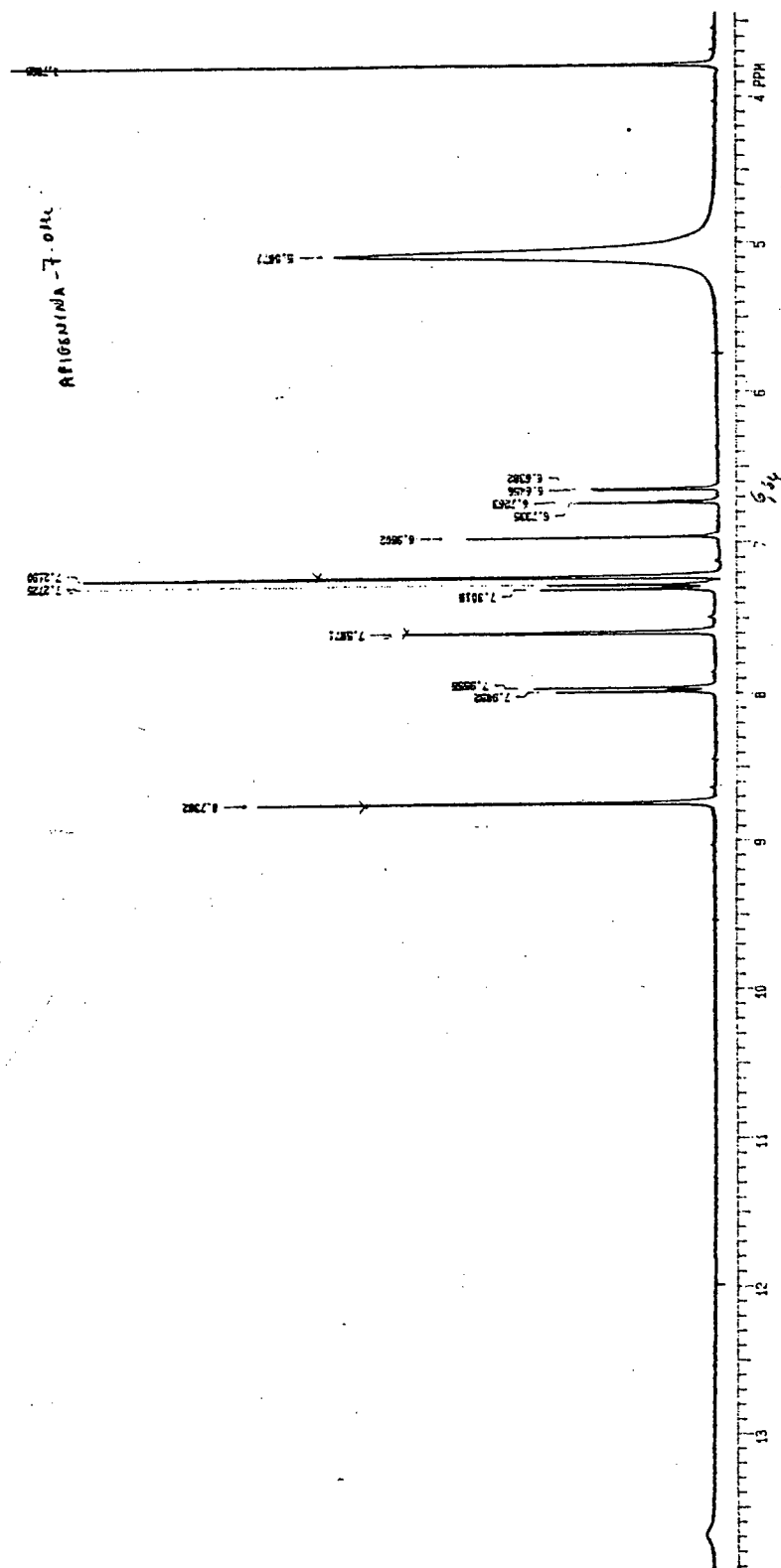


FIGURA - 53: Espectro de RMN ^1H (Piridina D_5 , 300 MHz) da Apigenina-7-metoxi (15)

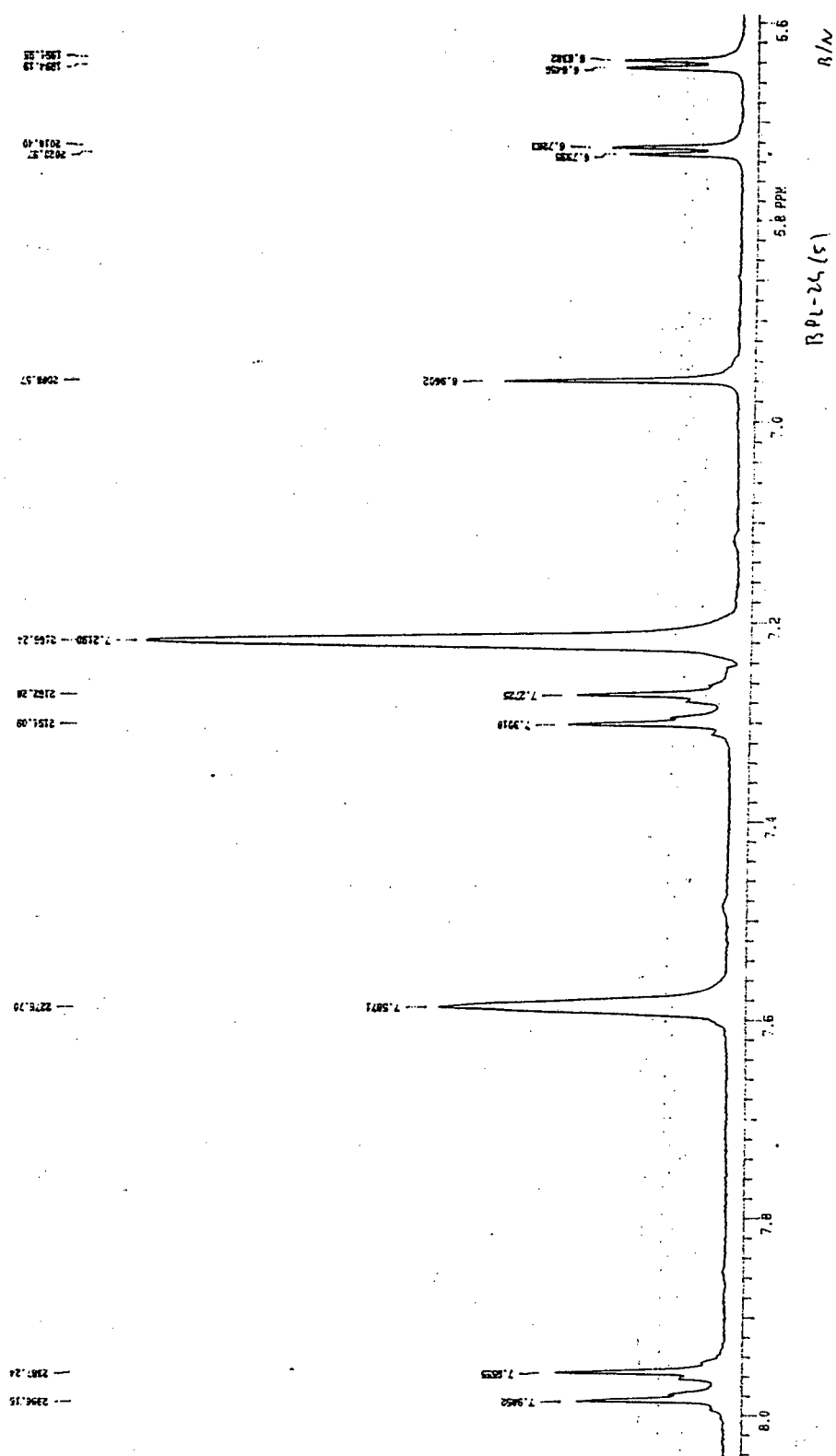


FIGURA - 54: Espectro de RMN ^1H (Piridina D_5 , 300 MHz) de Apigenina-7-metoxi (15), na região de 5,6 - 8,0 ppm

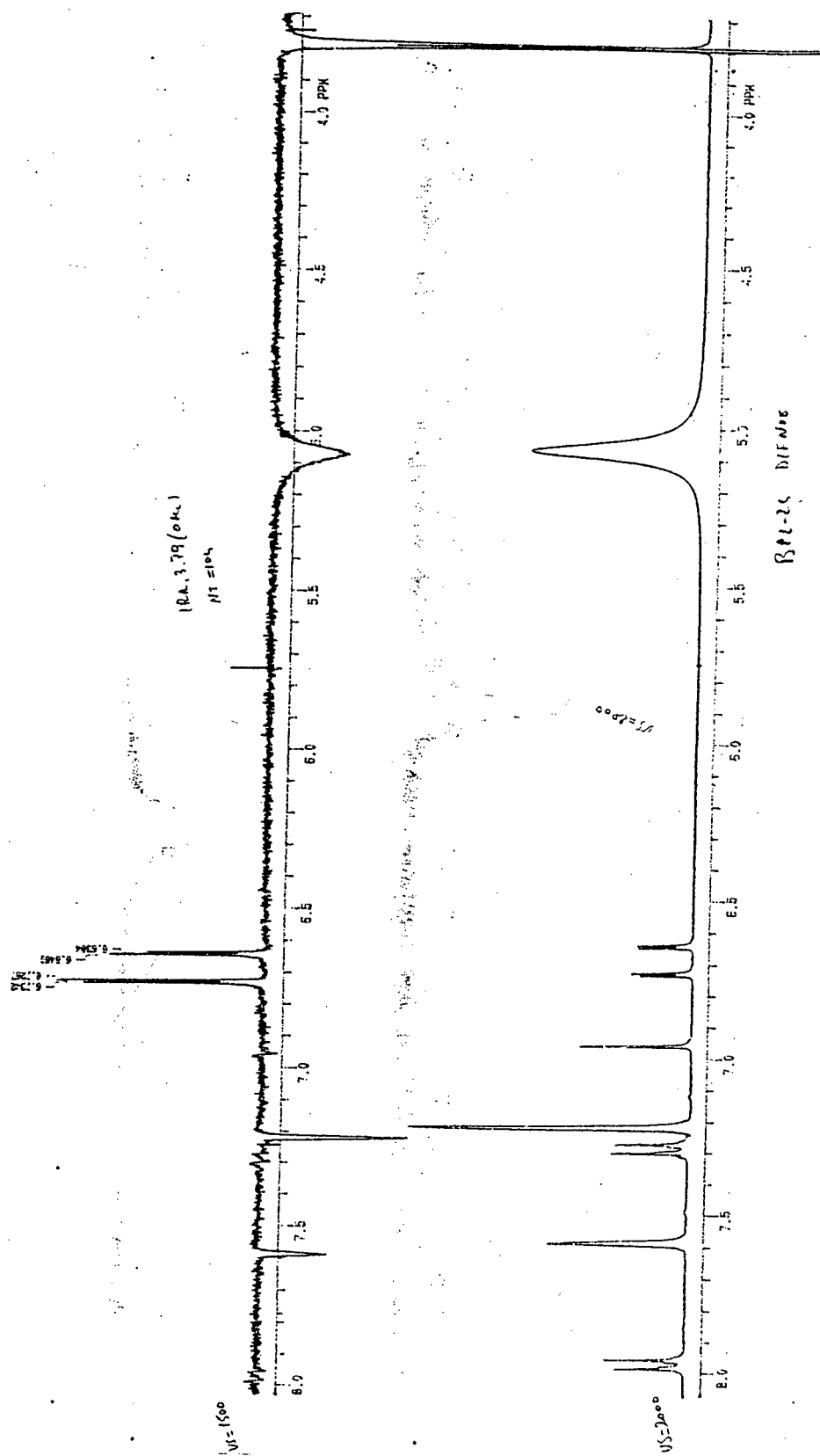


FIGURA - 55 : Espectro de DIFNOE Irr. 3.79 ppm, de Apigenina-7-metoxi (15)

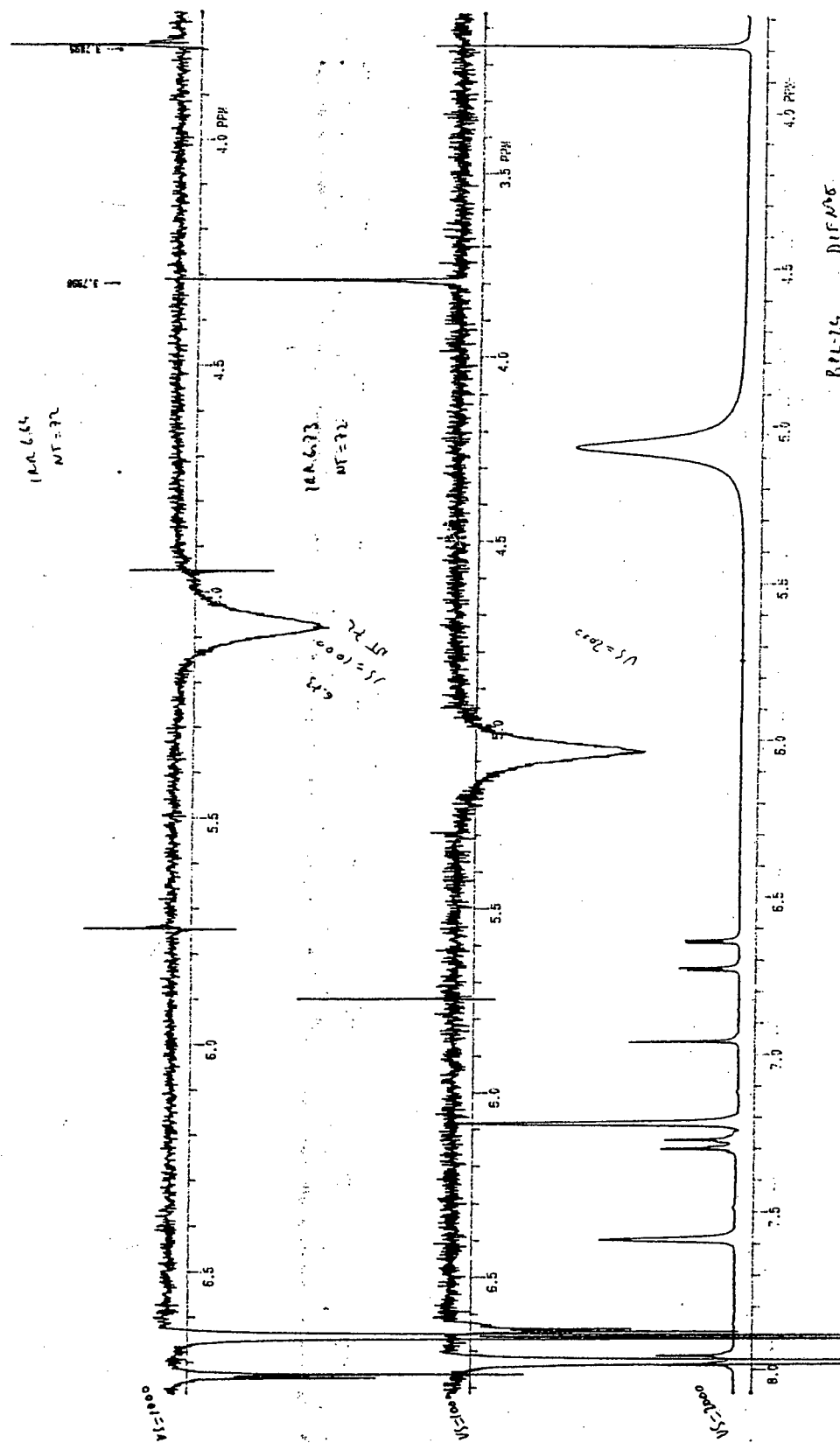


FIGURA - 56: Espectro de DIFNOE Irr. 6,73 ppm, da Apigenina-7-metoxi (15)

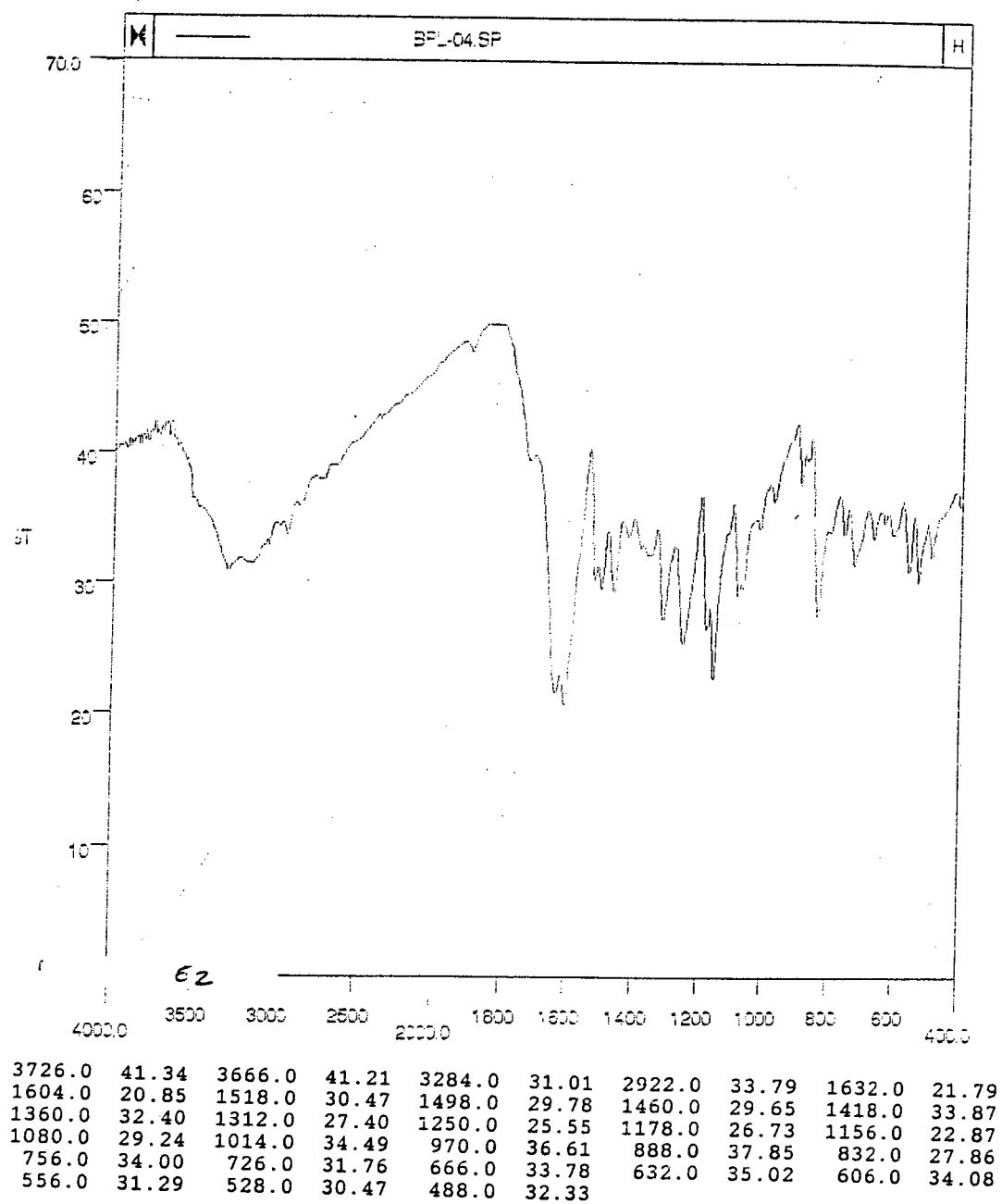


FIGURA- 57 : Espectro de Infravermelho da Naringenina (12) em KBr

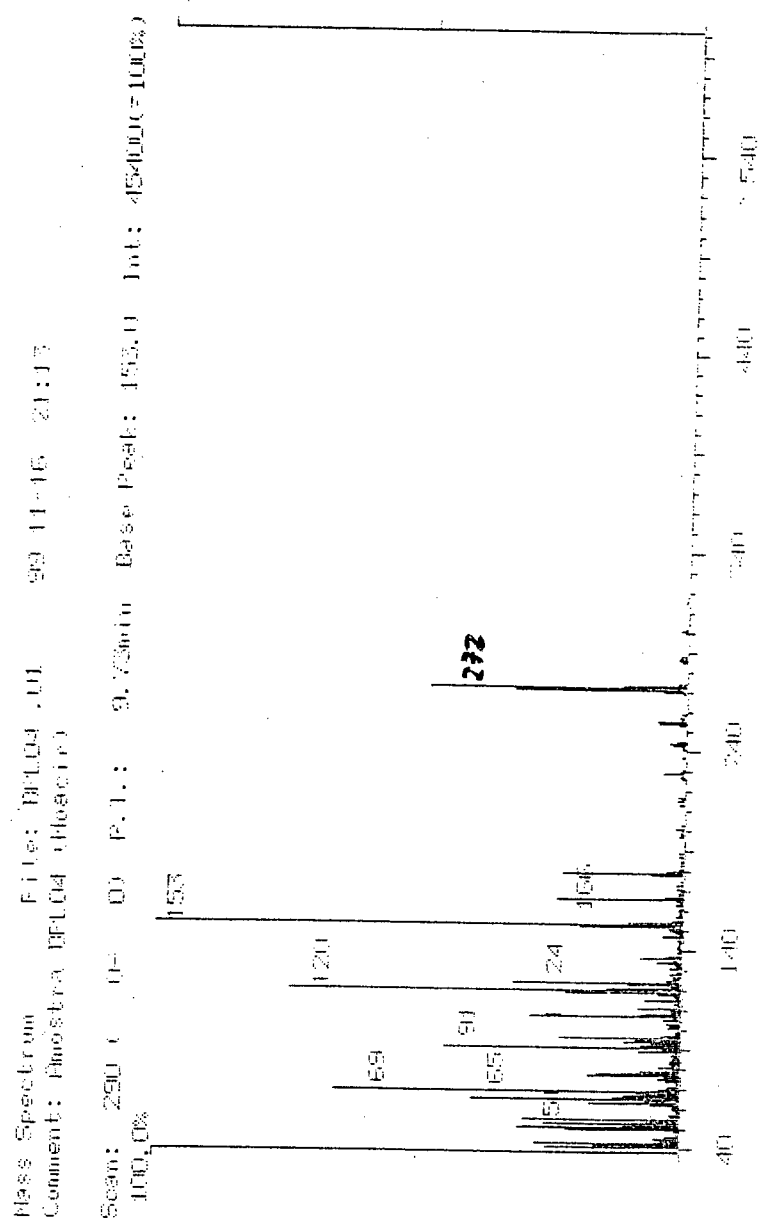


FIGURA - 58: Espectro de massas (70 eV) da Naringenina (12)

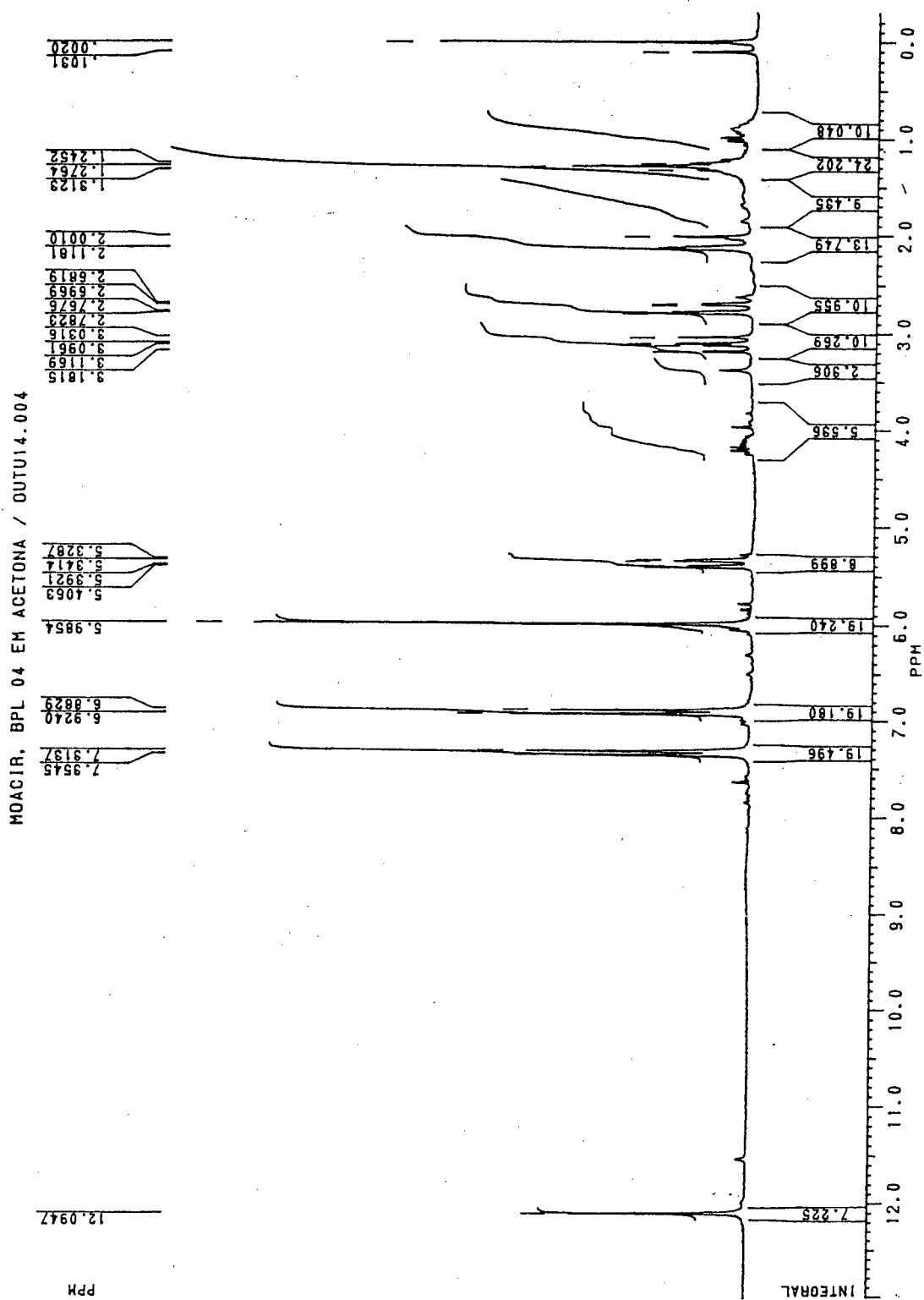


FIGURA- 59: Espectro de RMN ^1H (Acetona D_6 , 200 MHz) da Naringenina (12)

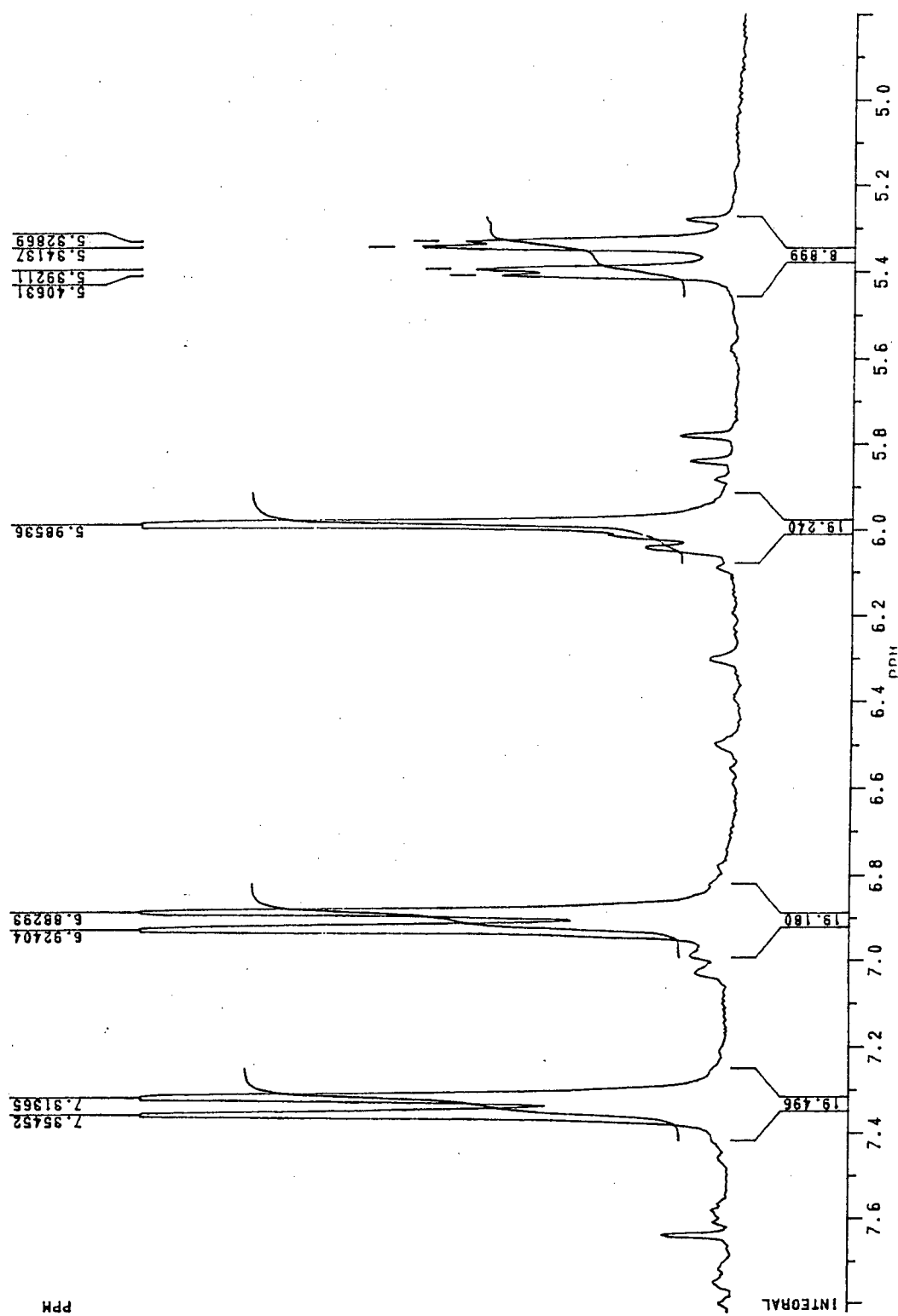


FIGURA - 60: Espectro RMN ^1H (Acetona D_6 , 200 MHz) da Naringenina 12, na região de 5,2-7,4 ppm

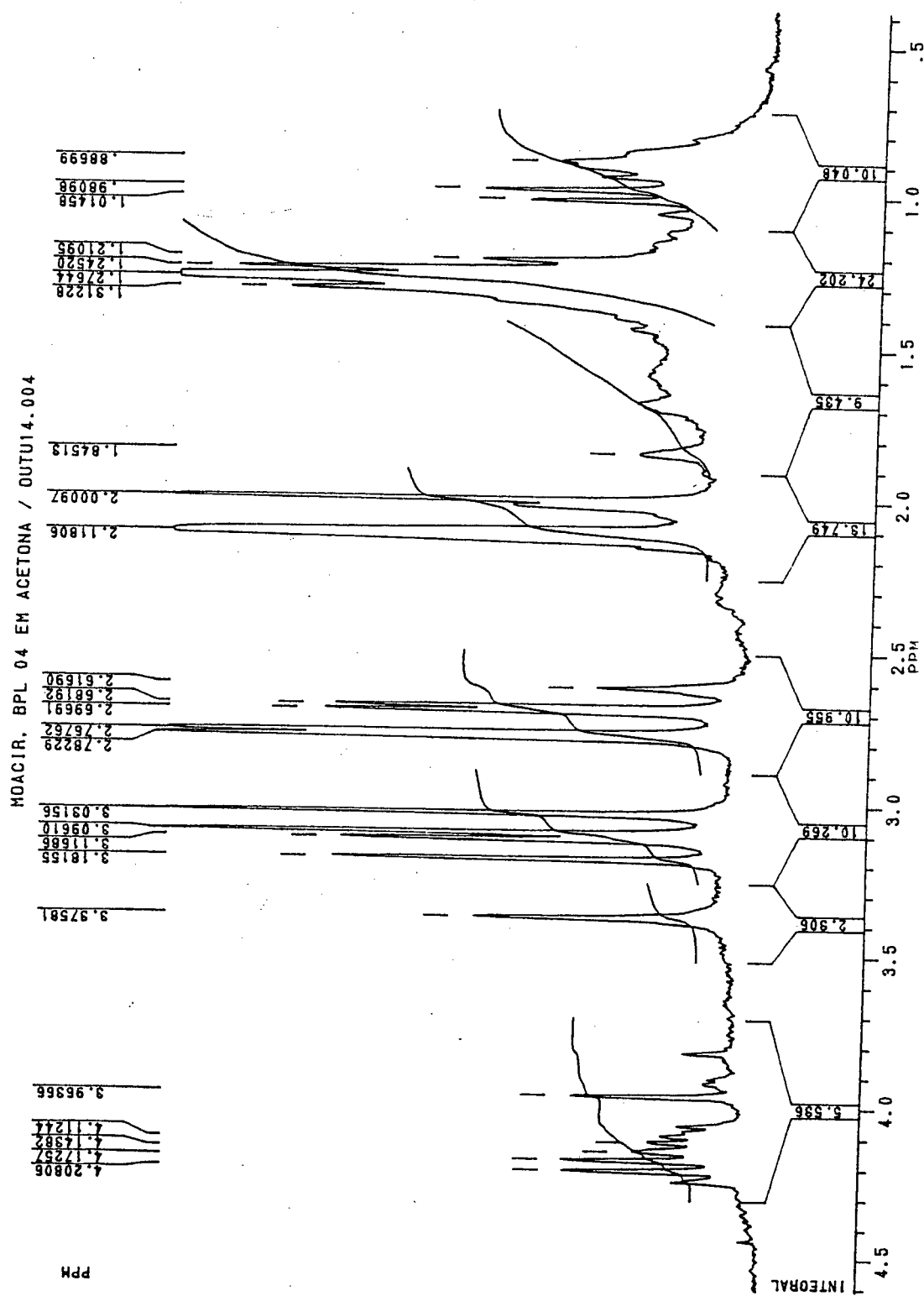


FIGURA - 61: Espectro de RMN ^1H (Acetona D_6 , 200 MHz) da Naringenina 12, na região de 1,0 - 4,5 ppm

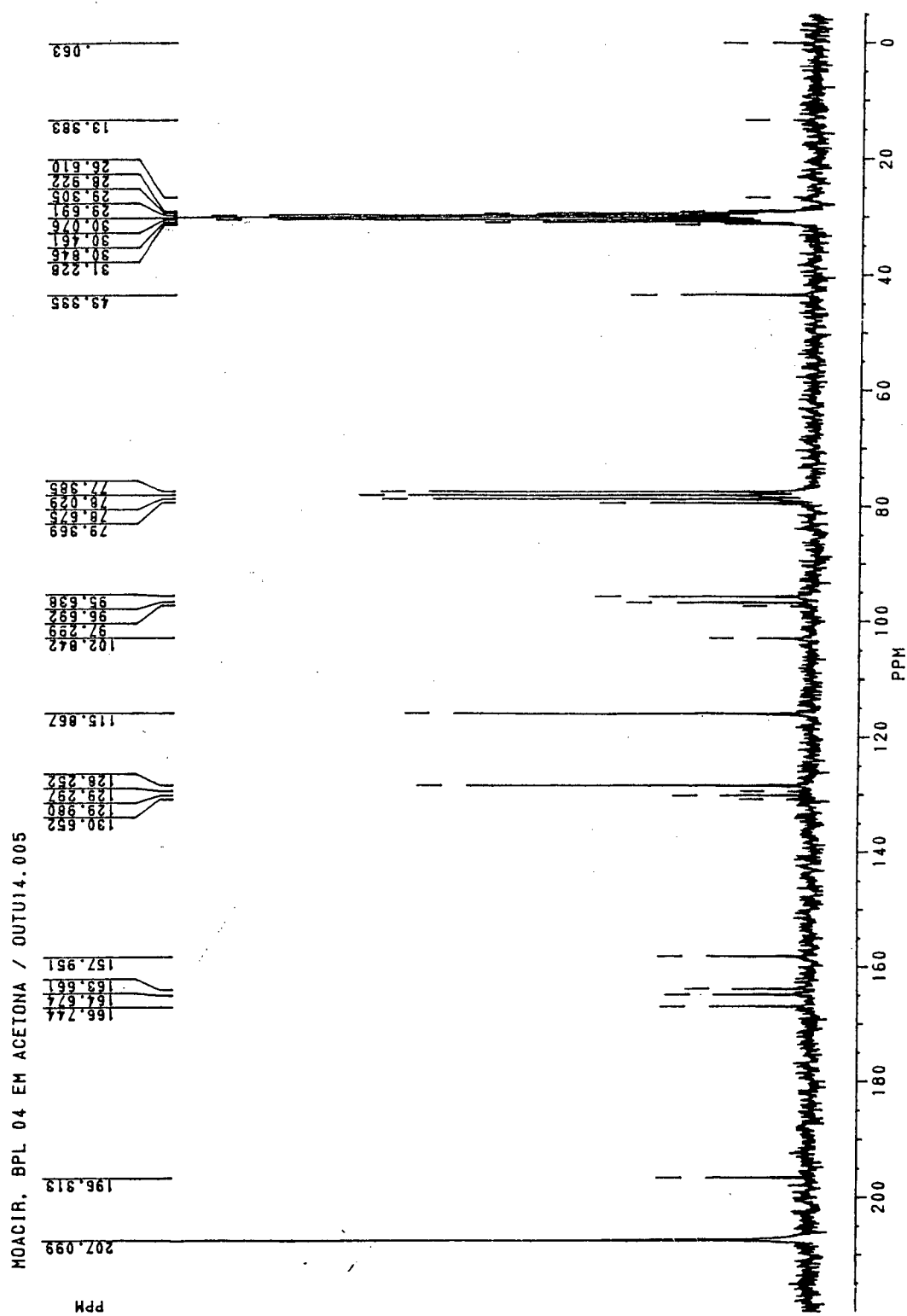
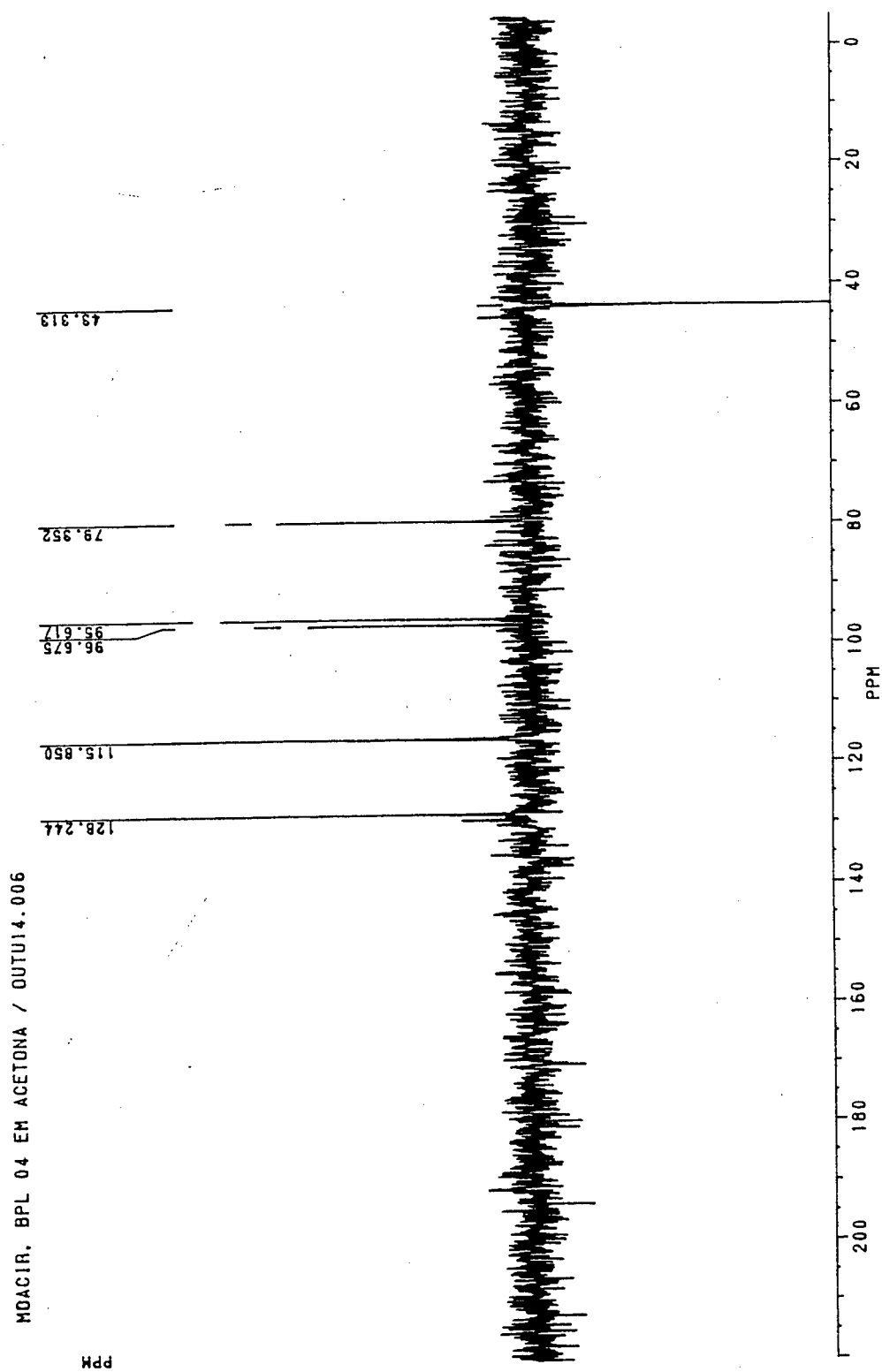


FIGURA- 62: Espectro de RMN ^{13}C (Acetona D_6 , 50 MHz) da Naringenina (12)

FIGURA - 63: RMN $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (Acetona D_6 , 50 MHz) da Naringenina (12)

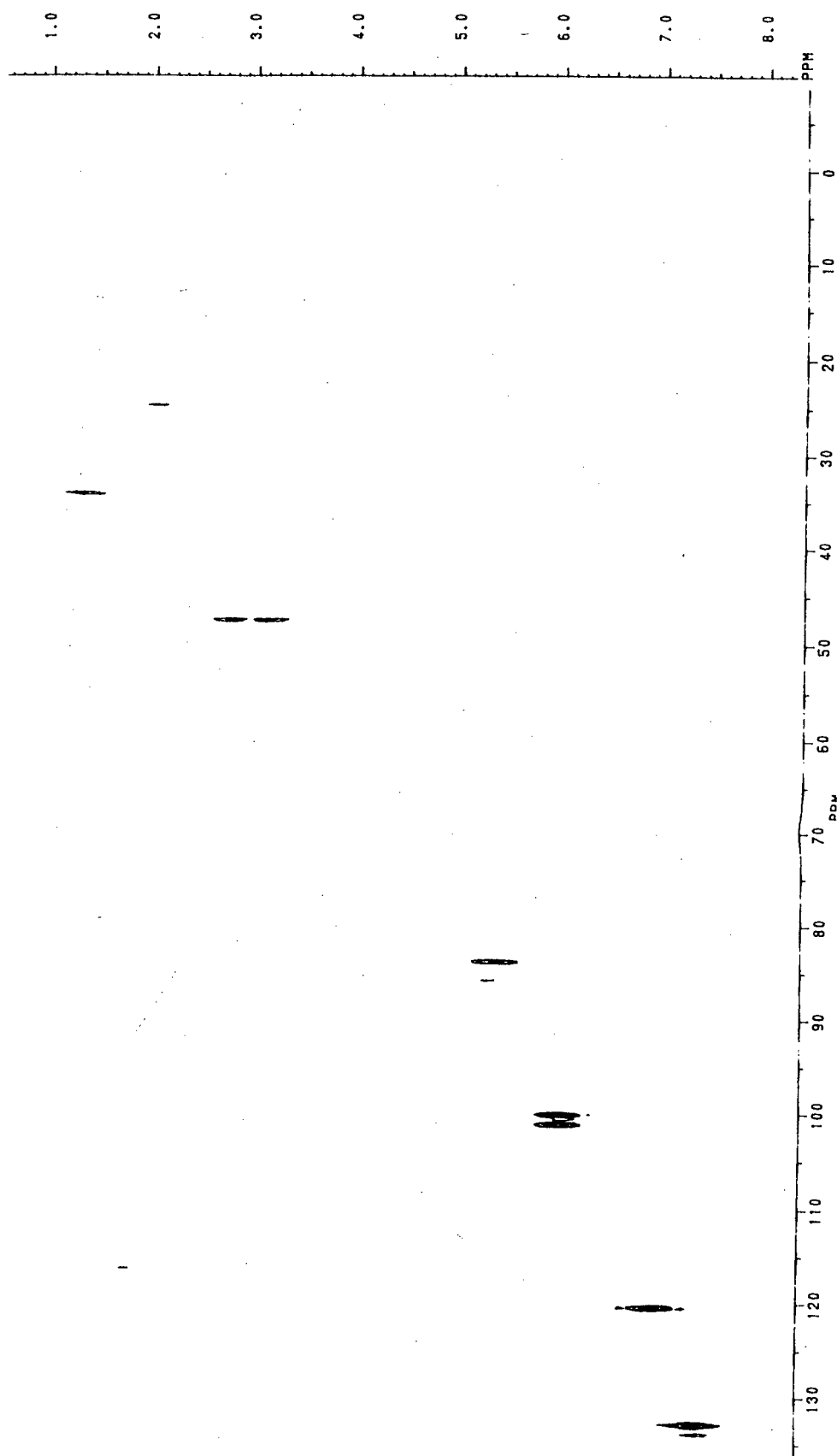


FIGURA - 64: Espectro de HETCOR (Acetona D₆, 50 MHz) da Naringenina (12)

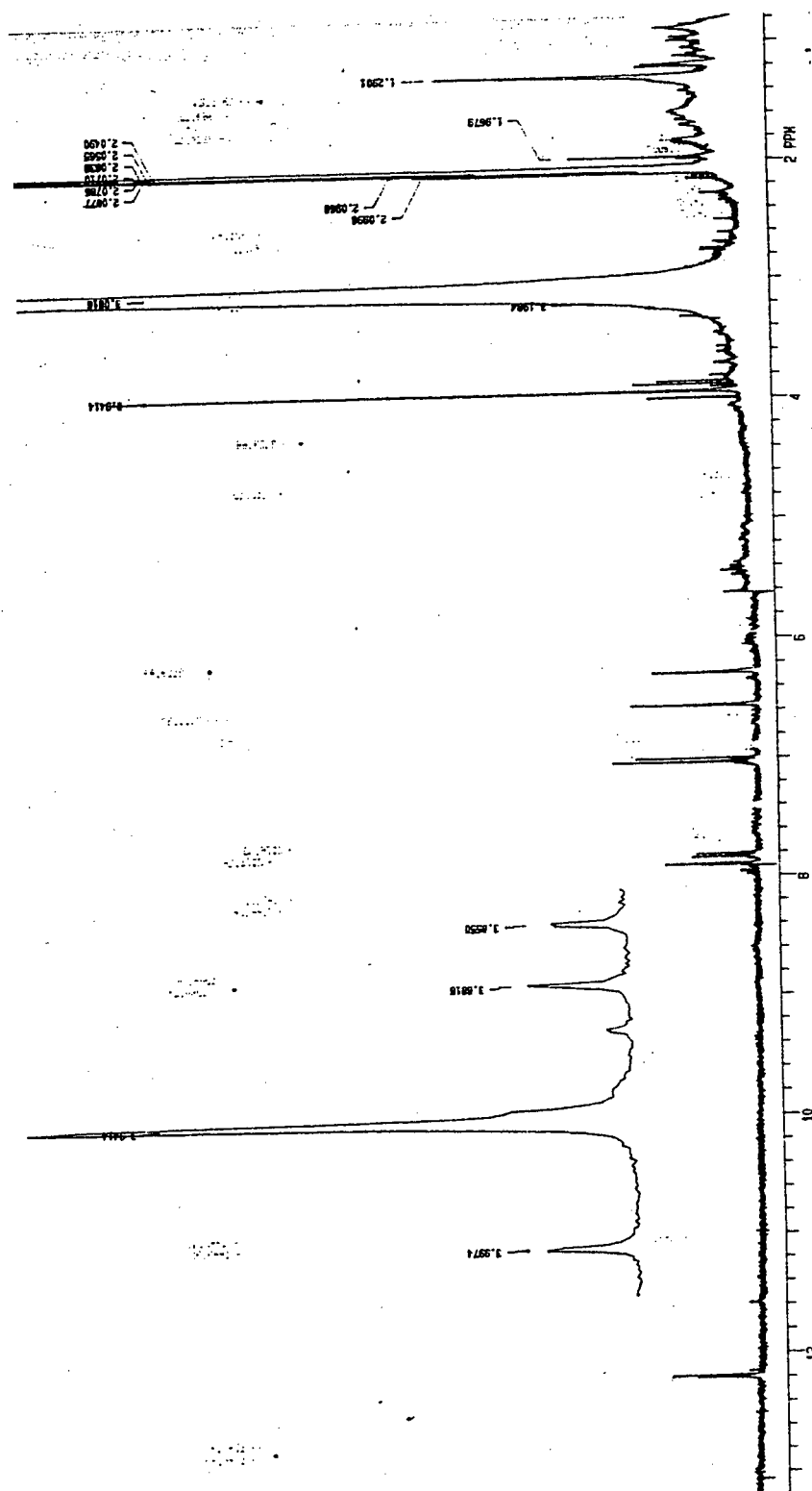


FIGURA - 65: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) da Quercetina-3'-metoxi (14)

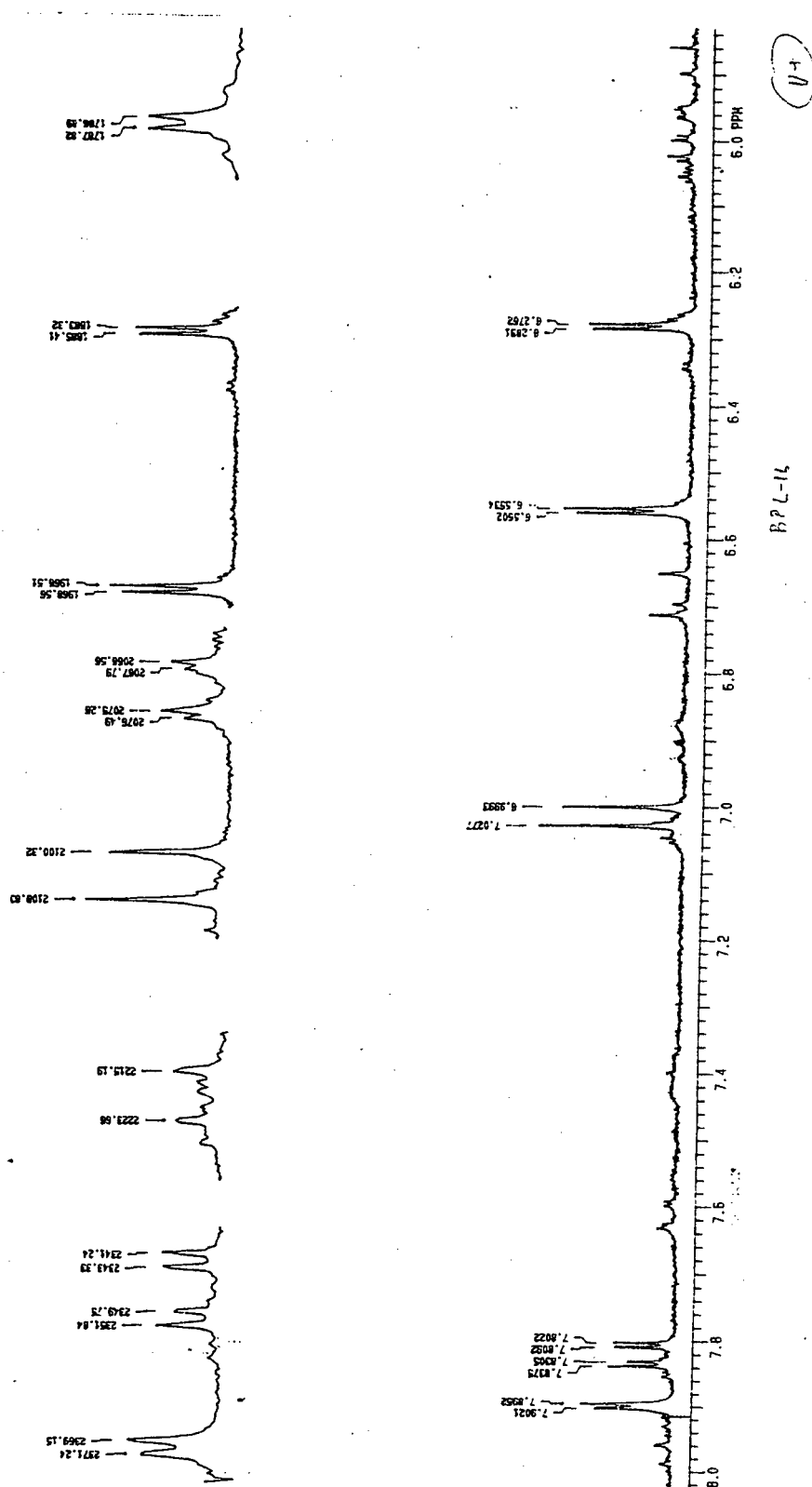
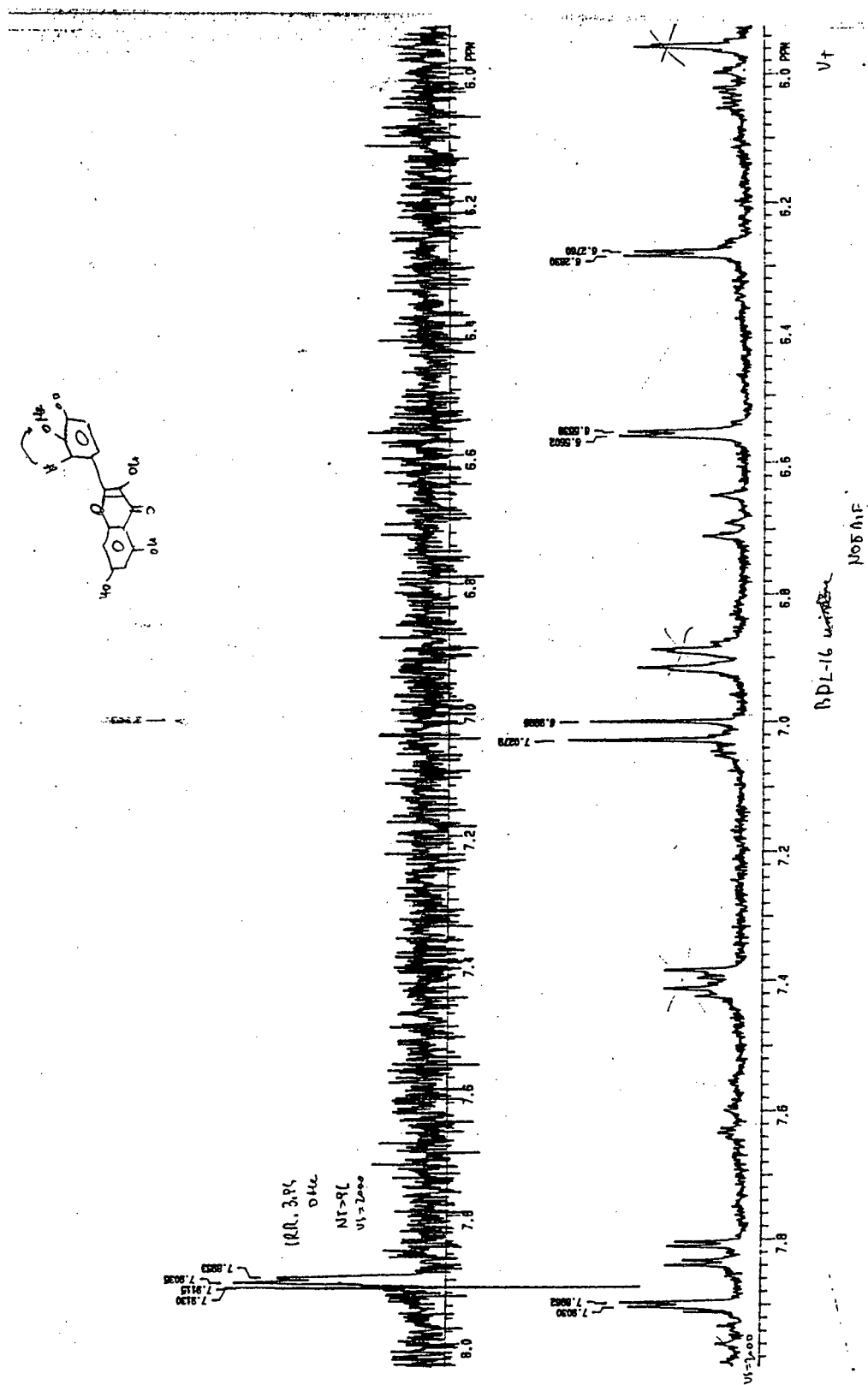


FIGURA - 66: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) da Quercetina-3'-metoxi (14), na região de 6-8 ppm

FIGURA - 67: Espectro DIFNOE (CD₃OD, 300 MHz) da Quercetina-3'-metoxi (14)

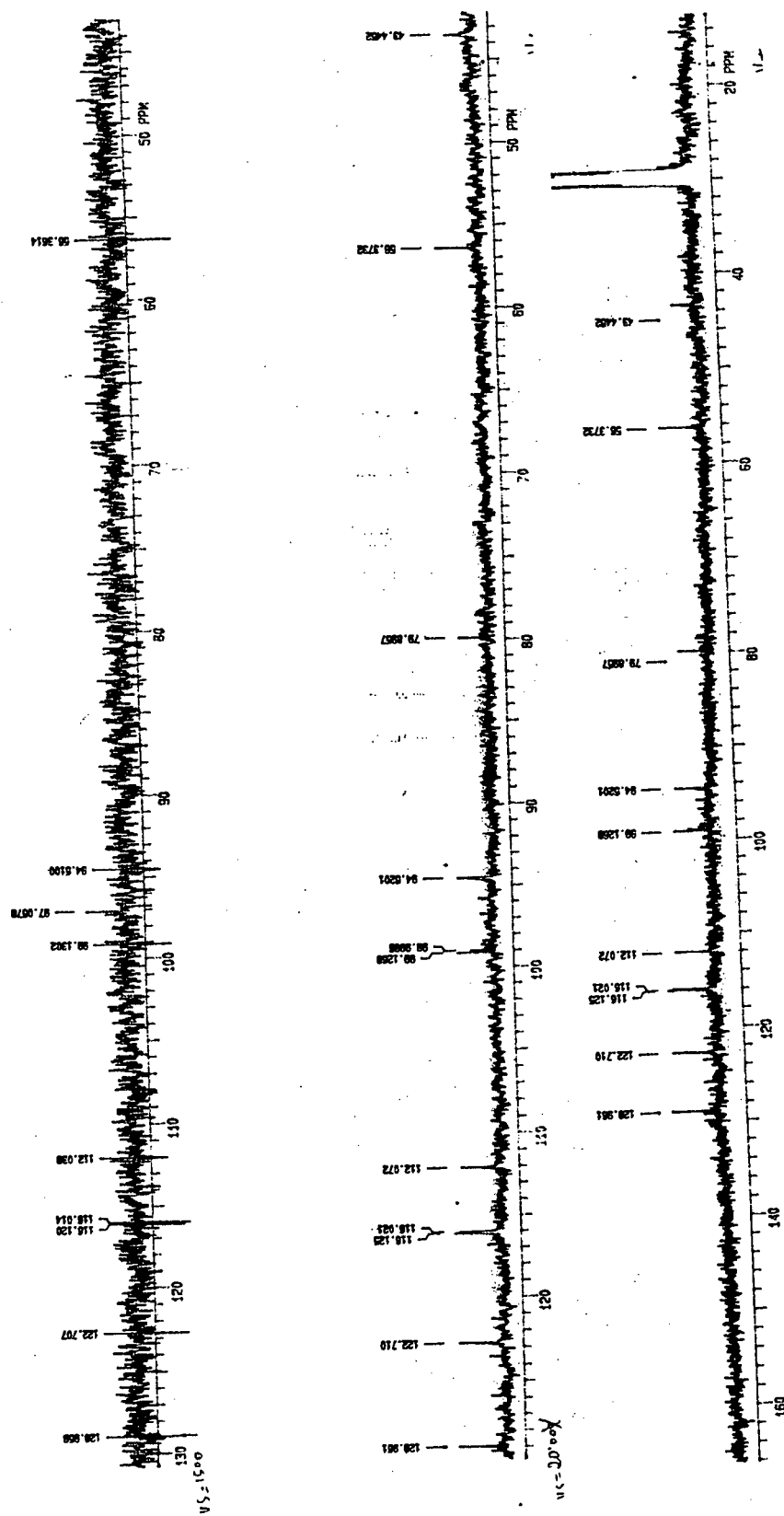


FIGURA- 68: Espectro de RMN ^{13}C /APT (CD_3OD , 75 MHz) da Quercetina-3-OMe (14)

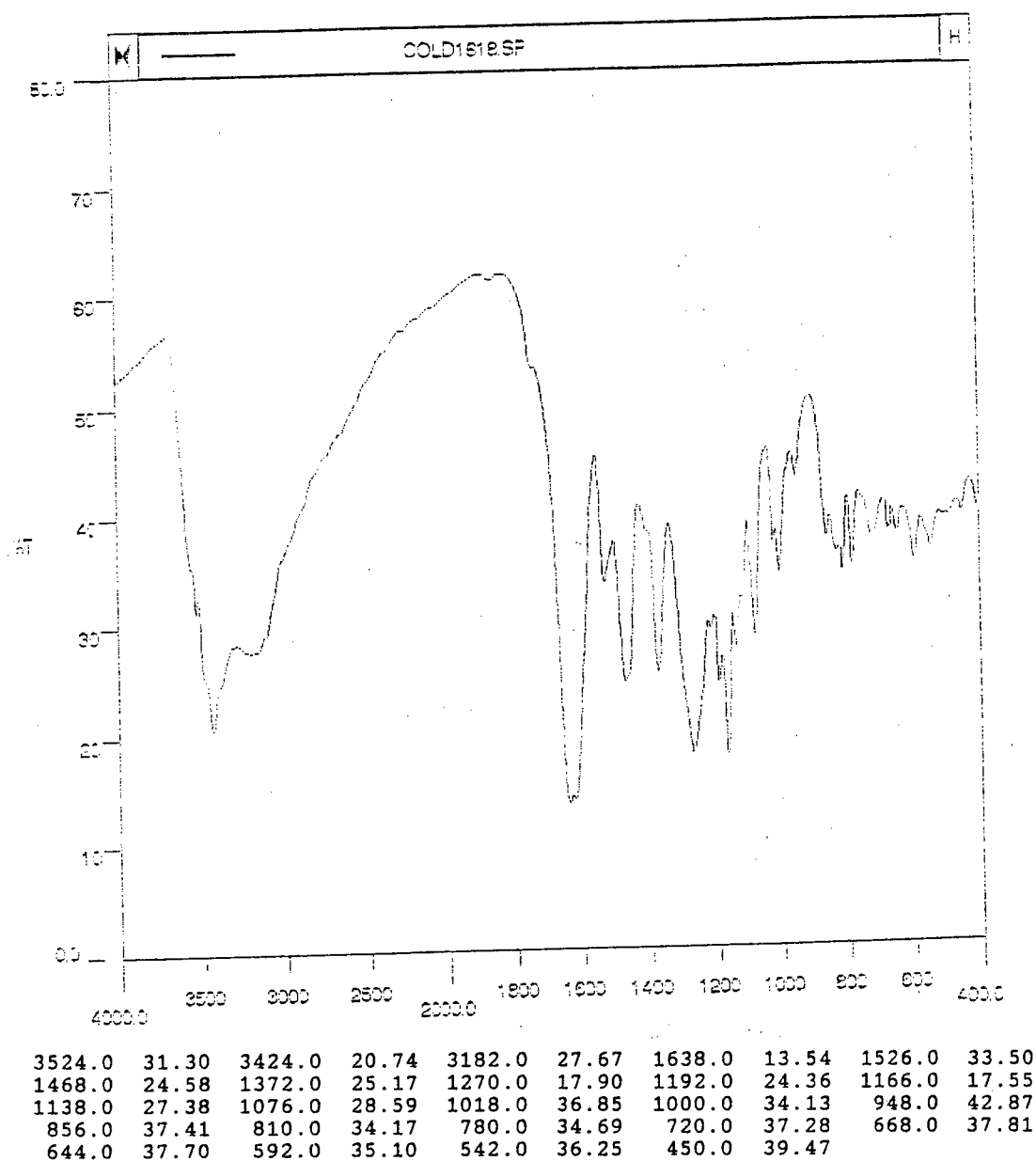


FIGURA - 69 : Espectro de Infravermelho da Taxifolina (16) em KBr

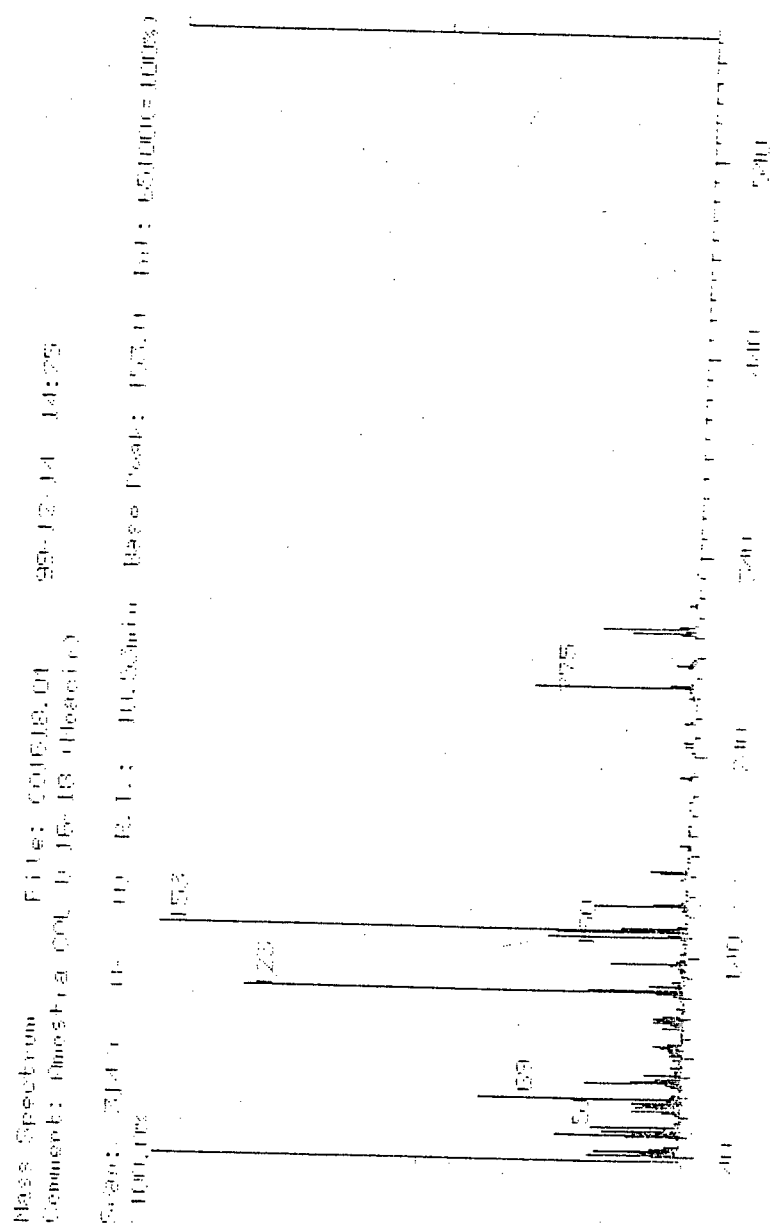


FIGURA - 70: Espectro de massas (70 eV) da Taxifolina (16)

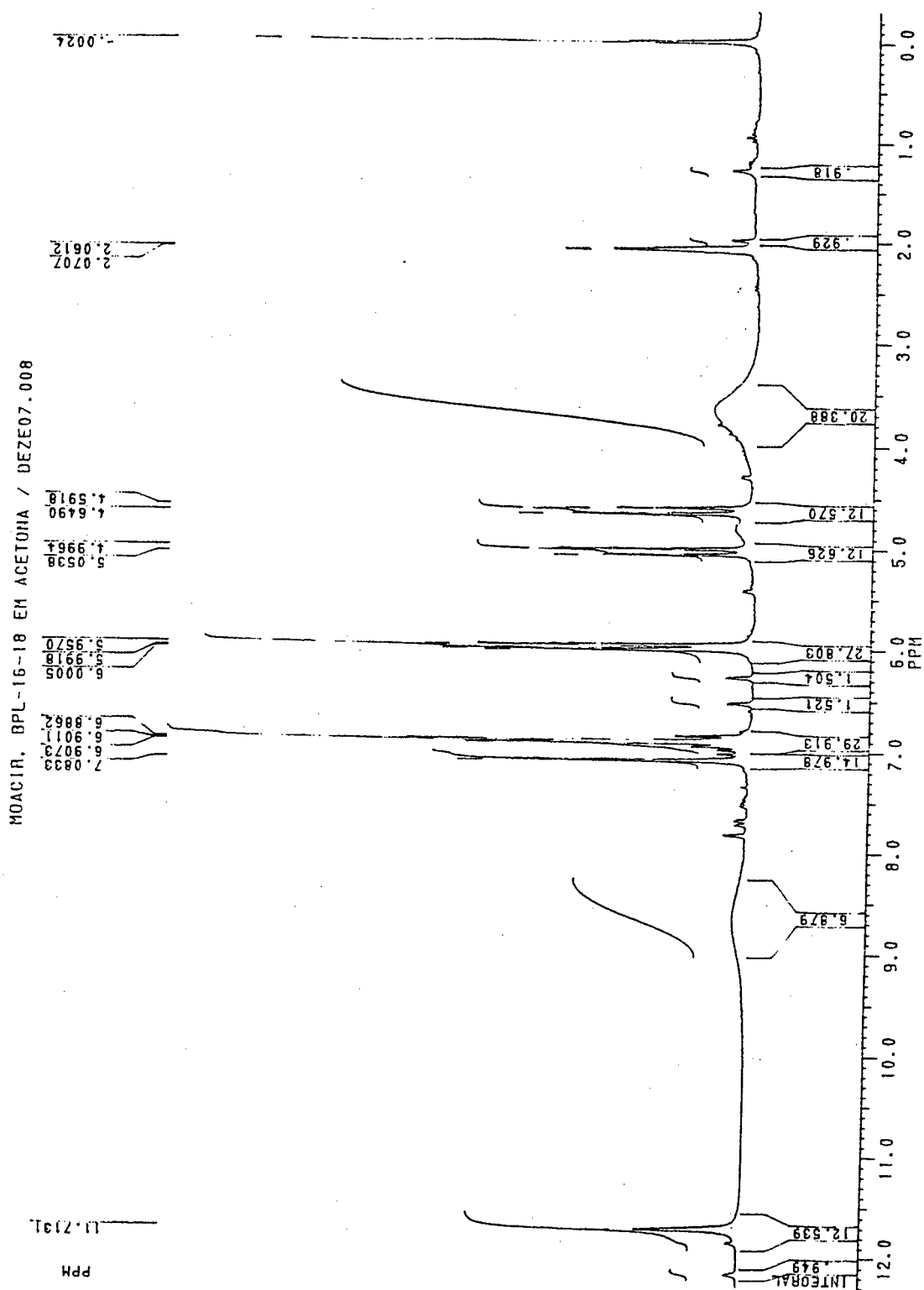


FIGURA - 71: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz) da Taxifolina (16)

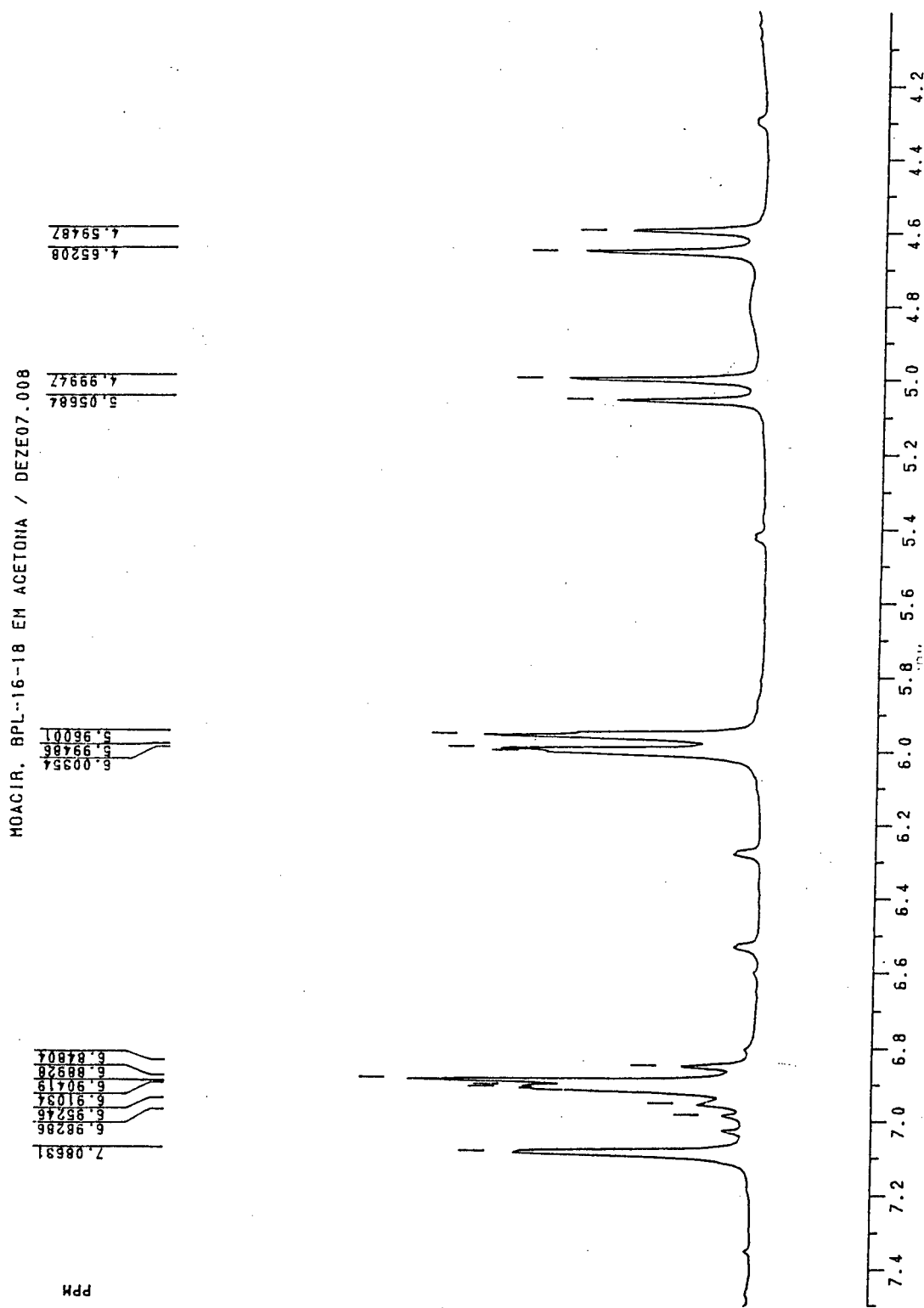


FIGURA - 72: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz) da Taxifolina (16) na região de 4,4-7,2 ppm

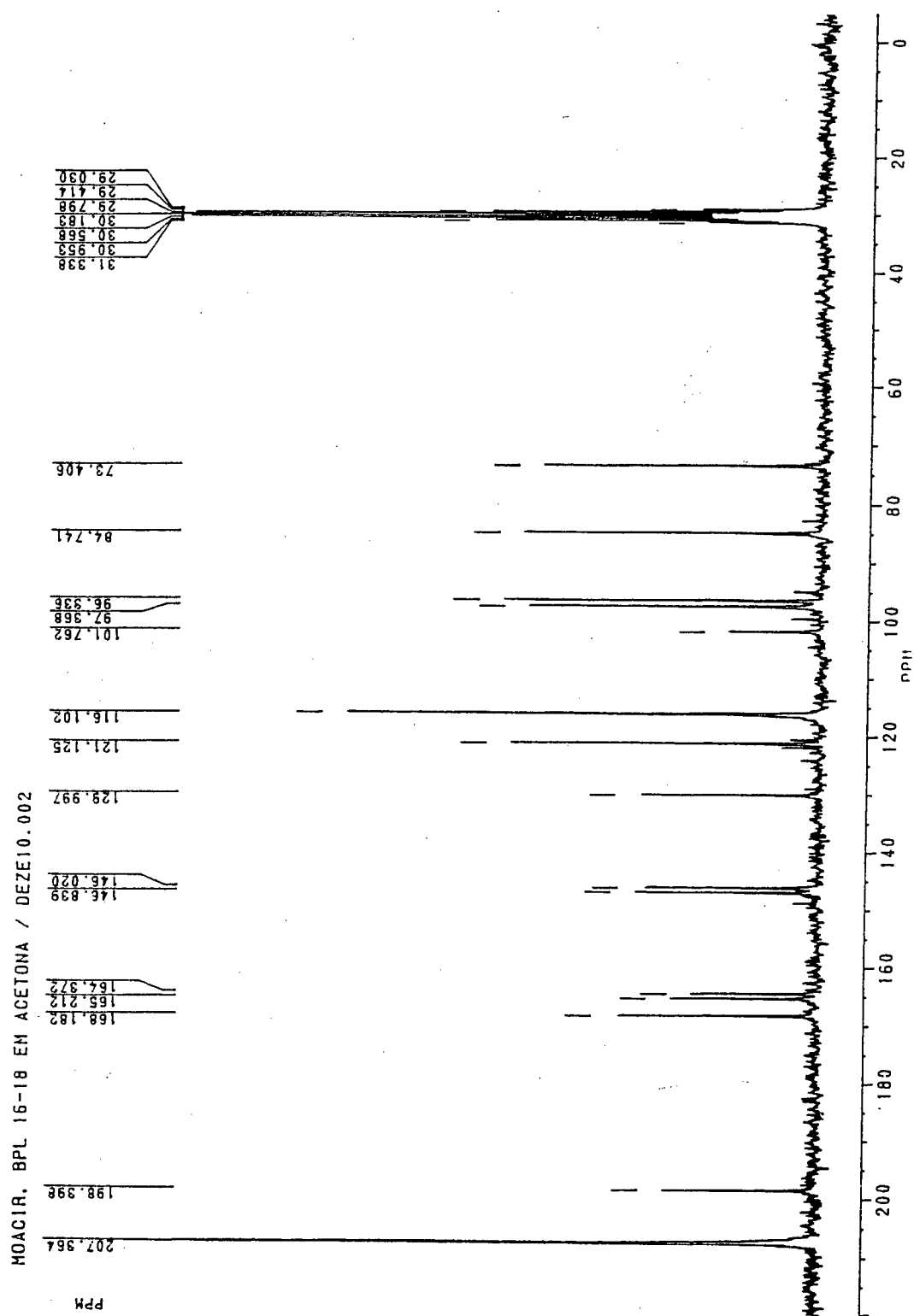
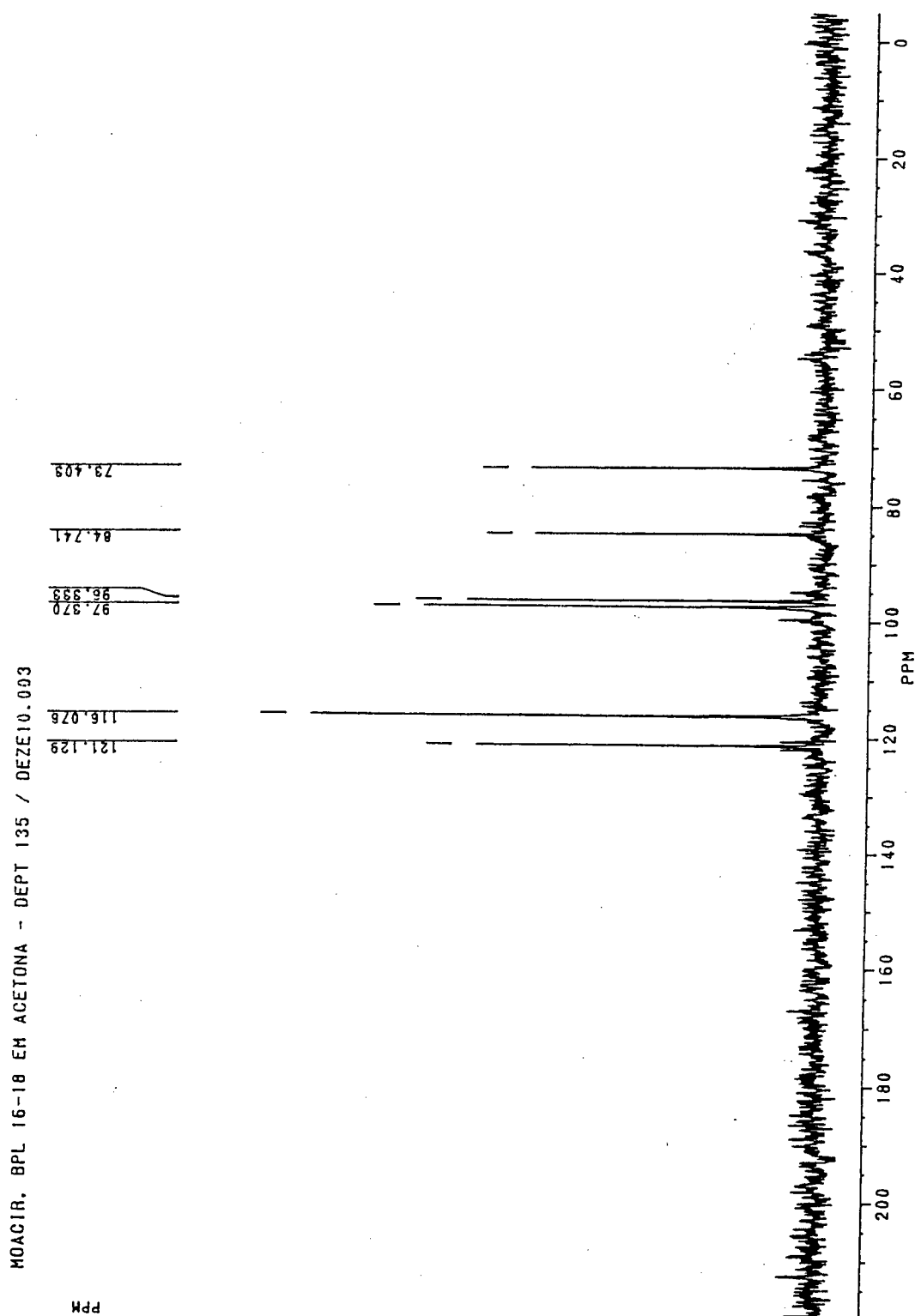


FIGURA - 73: Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD , 50 MHz) da Taxifolina (16)

FIGURA - 74: Espectro da RMN ^{13}C /DEPT (CD_3OD , 50 MHz) da Taxifolina (16)

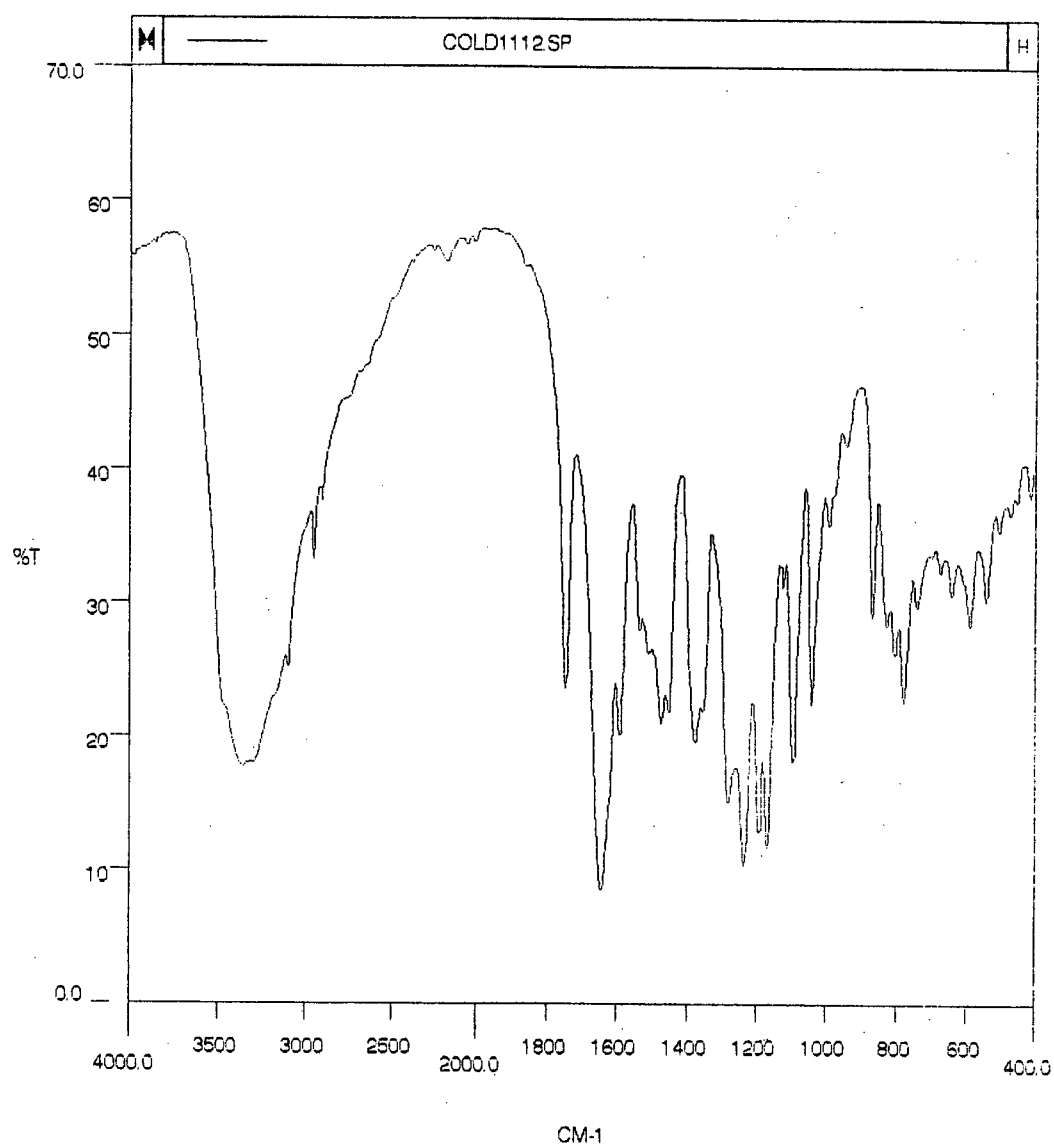


FIGURA- 75: Espectro de Infravermelho da Taxifolina-3-acetil (17) em KBr

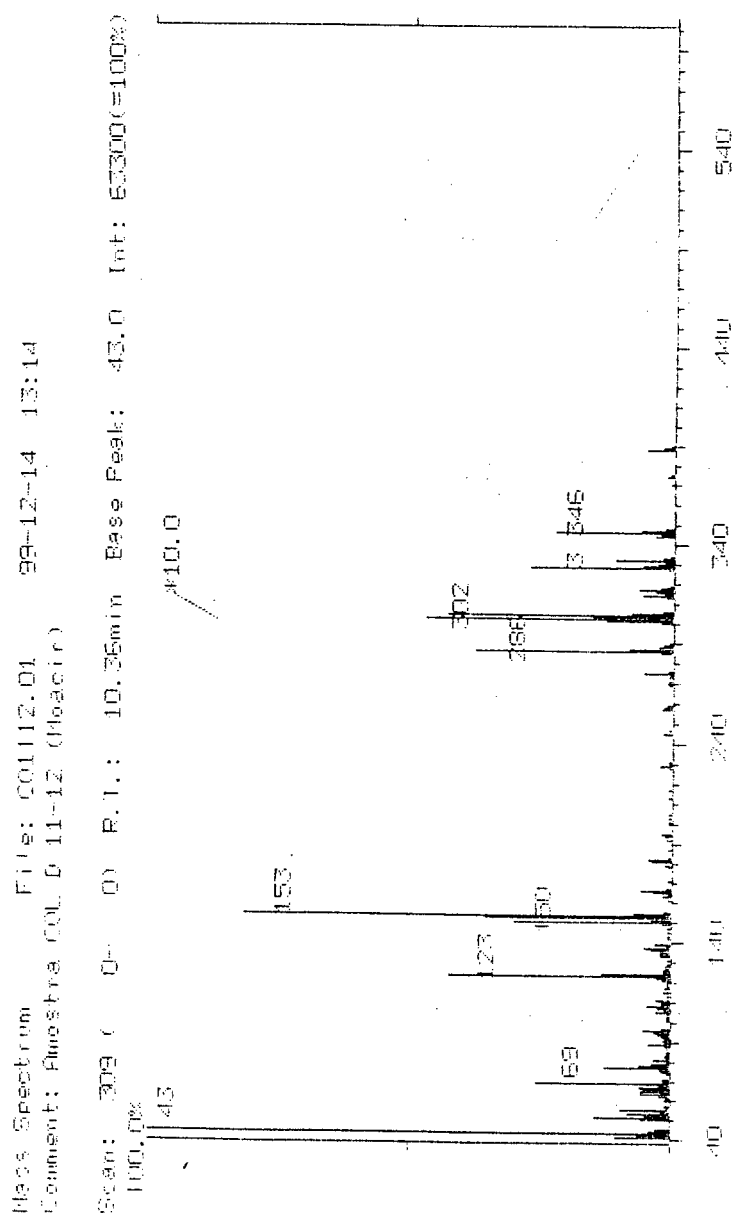
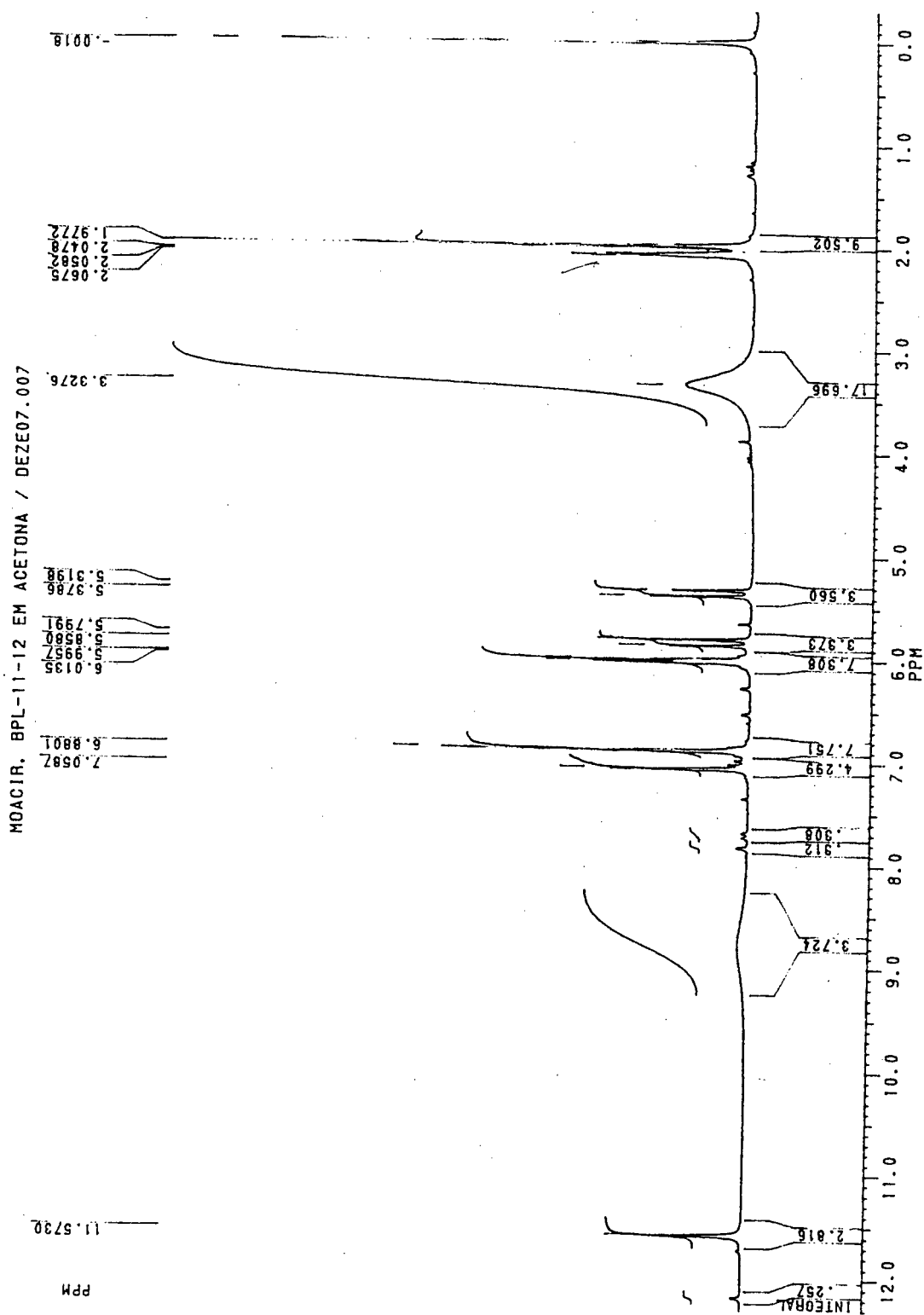


FIGURA - 76: Espectro de Massas (70 eV) da Taxifolina-3-acetil (17)

FIGURA - 77: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz) da Taxifolina-3-acetil (17)

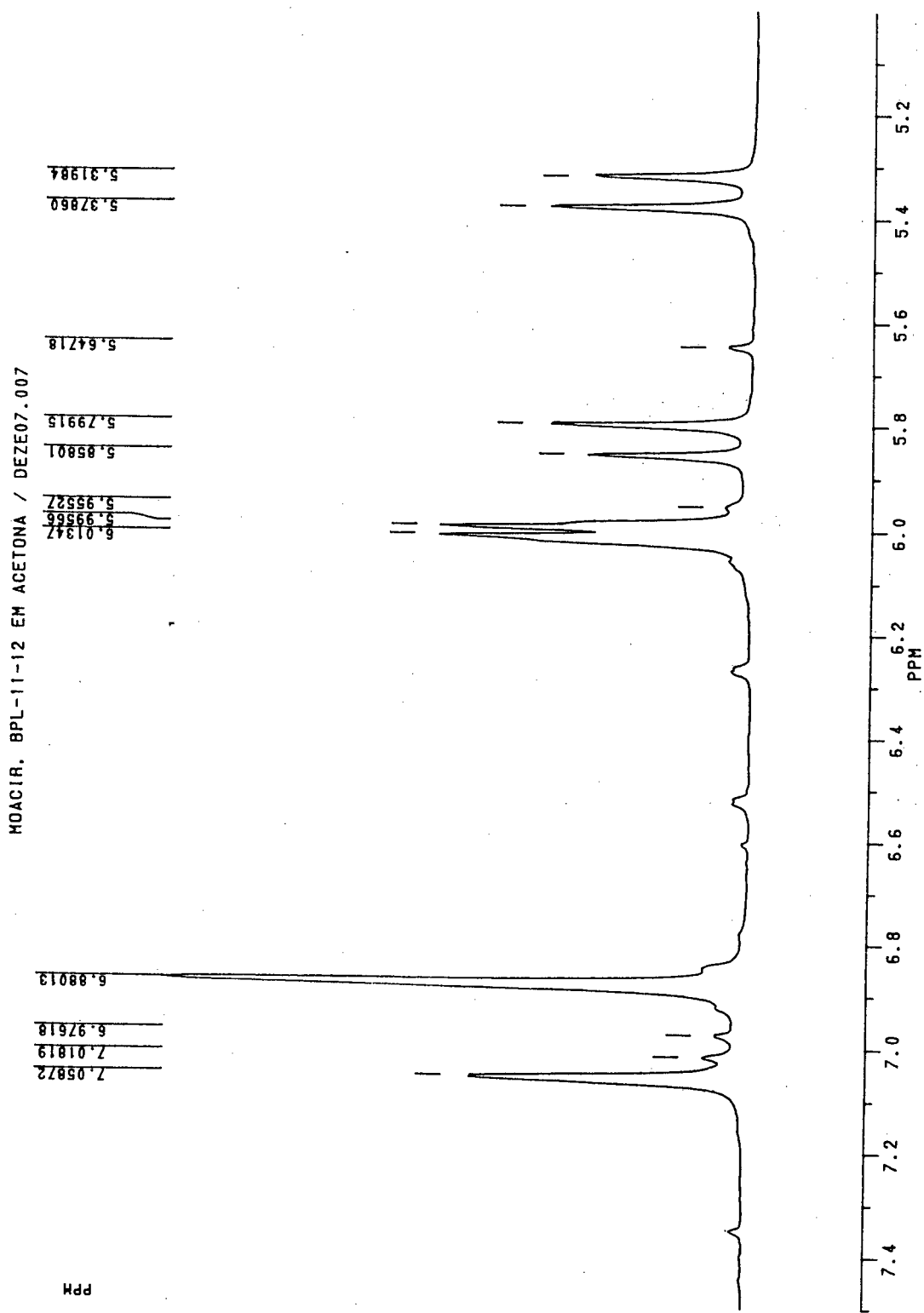


FIGURA - 78: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz) da Taxifolina-3-acetil (17) na região de 5,2-7,2 ppm

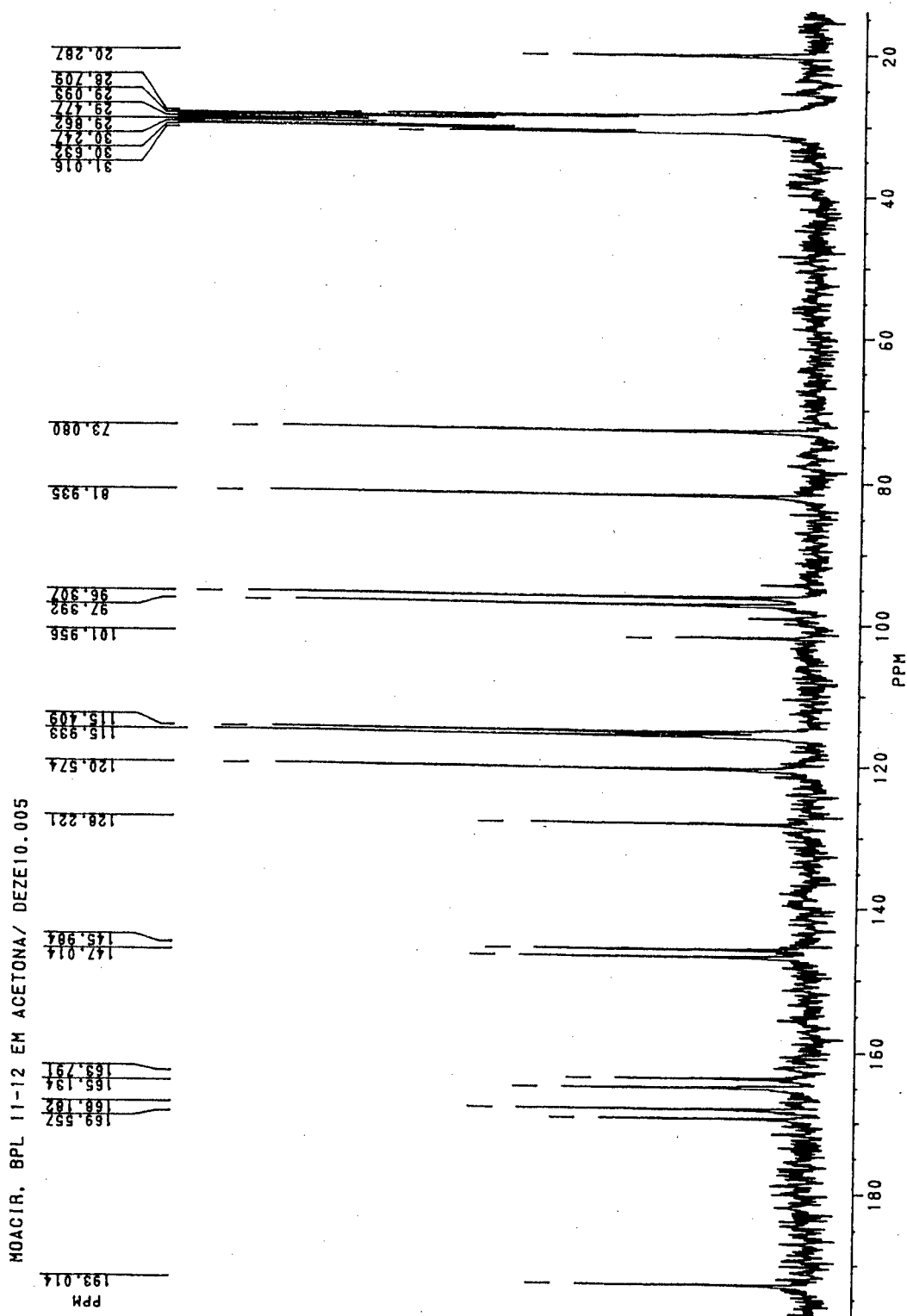
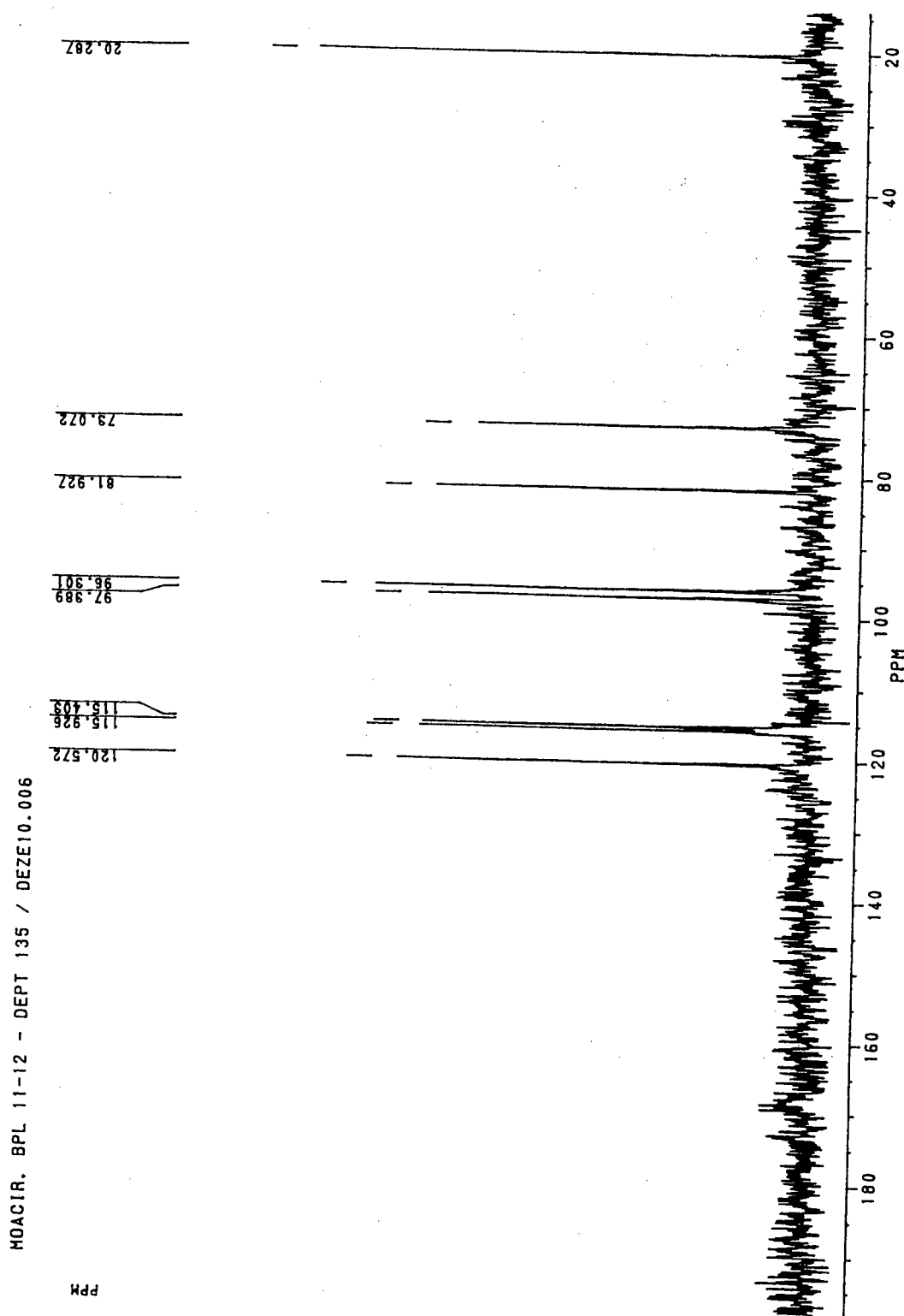


FIGURA - 79: Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD , 50 MHz) da Taxifolina-3-acetil (17)

FIGURA - 80: Espectro de RMN $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (CD_3OD , 50 MHz) da Taxifolina-3-acetil (17)

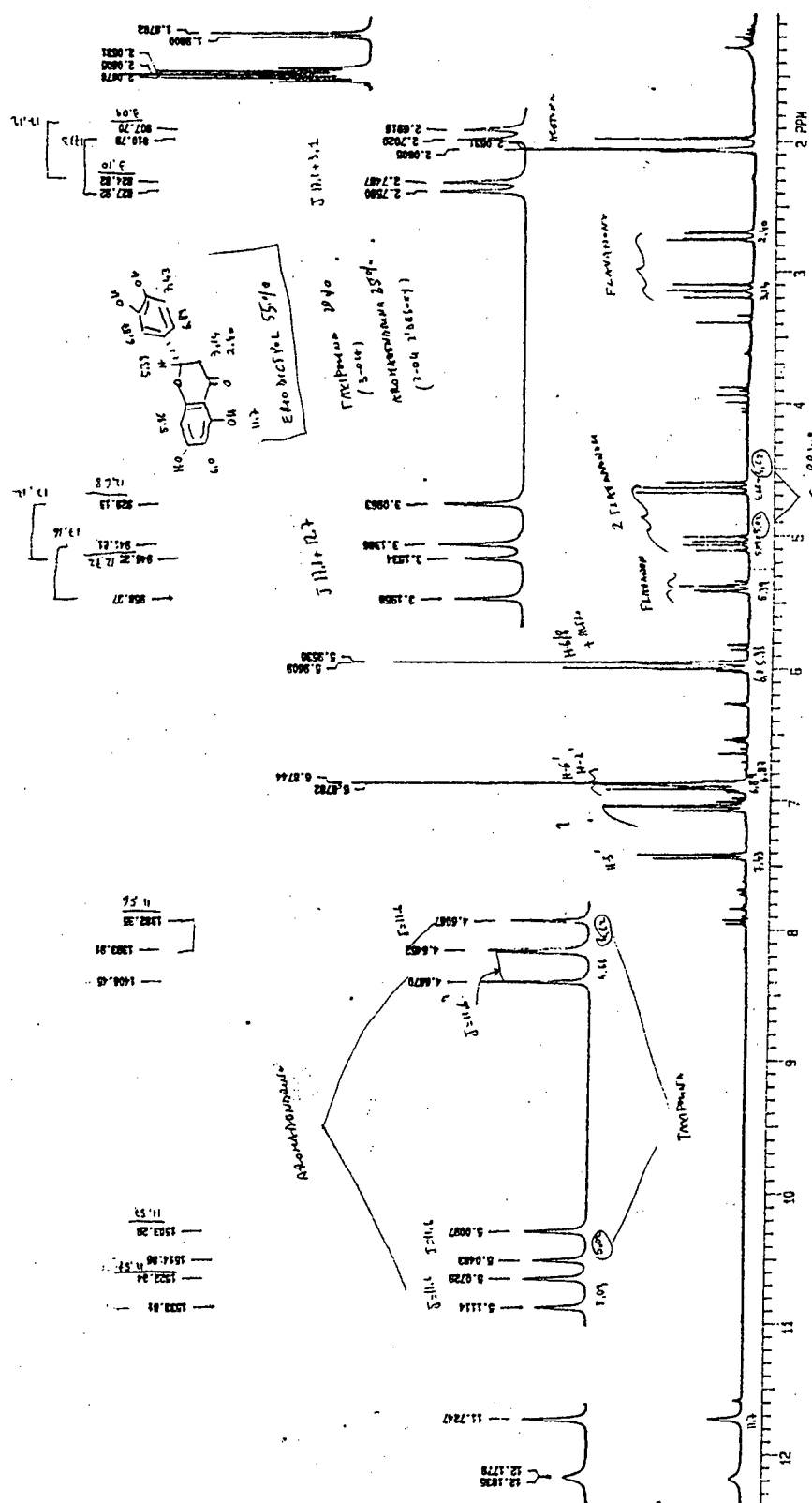


FIGURA - 81: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) da mistura Eriodictiol (18) e Aromadendrina (19)

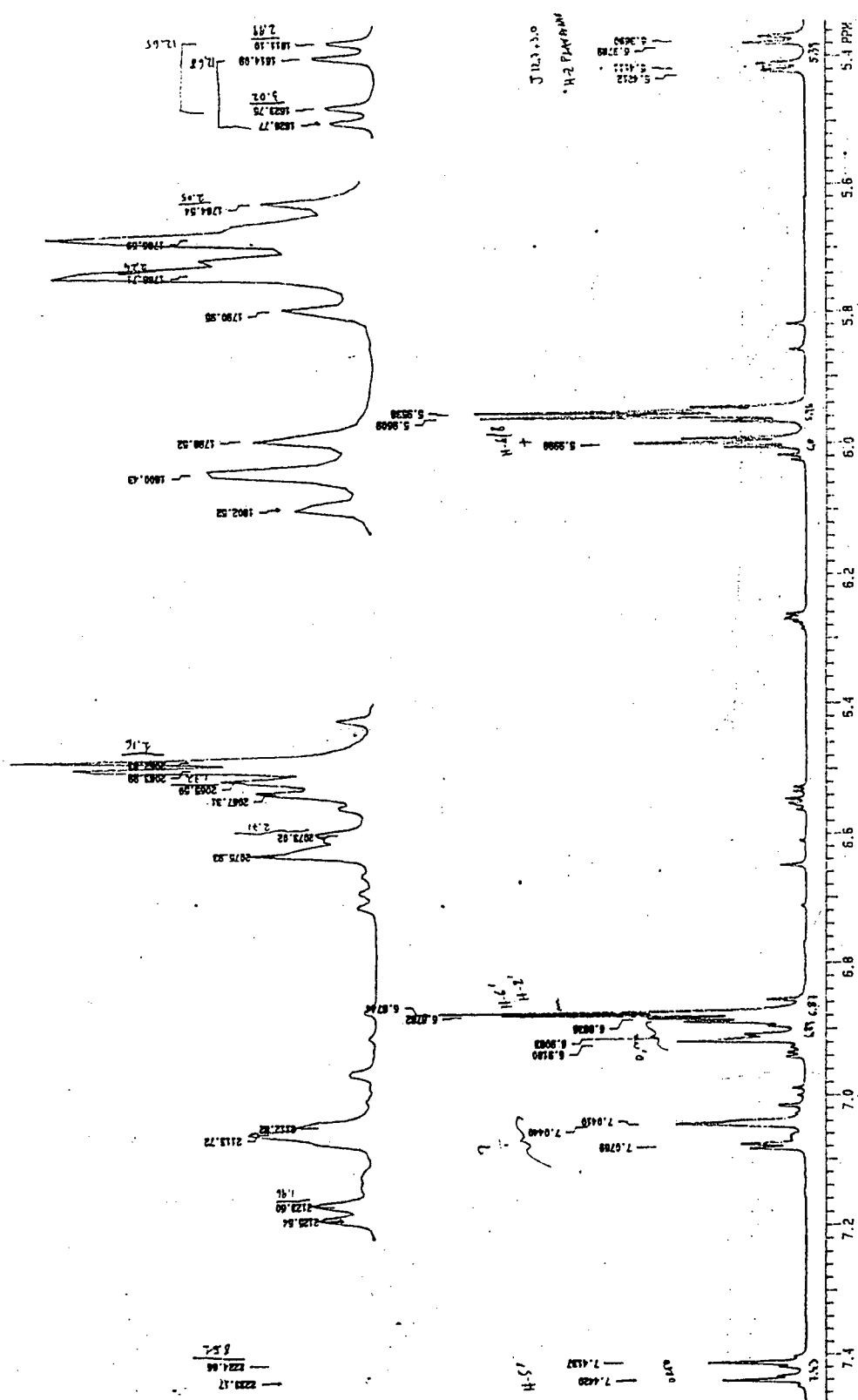


FIGURA - 82: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) da mistura Eriodictiol (18) e Aromadendrina (19) na região de 5,2 a 7,5 ppm

